

**ZUR SPONTANEN ELEKTRISCHEN UND
MECHANISCHEN AKTIVITÄT DES URETERS VON
MEERSCHWEINCHEN: EINFLUSS VON IONEN,
PHARMAKA UND INKUBATIONSBEDINGUNGEN**

Benno Rattai

*Diss
München
1905*

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Komm. Leiter: Prof. Dr. W. Leidl

und

Aus dem Institut für Biologie der Gesellschaft für
Strahlen- und Umweltforschung
Vorstand: Prof. Dr. H. Müller-Mohnssen

Abteilung für Strahlenbiologie
Leiter: Prof. Dr. Dr. U. Hagen

Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. A. Petter

ZUR SPONTANEN ELEKTRISCHEN UND MECHANISCHEN AKTIVITÄT DES URETERS VON MEERSCHWEINCHEN: EINFLUSS VON IONEN, PHARMAKA UND INKUBATIONSBEDINGUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Benno Rattel
aus München

München 1985

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. A. Petter

Korreferent: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Tag der Promotion: 26. Juli 1985

Meinen Eltern

Meiner Schwester und Renate

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. LITERATURÜBERSICHT	2
1. ZUR MORPHOLOGIE DES PYELOURETERS	2
1.1. Aufbau des Harnleiters	2
1.2. Aufbau des Nierenbeckens	2
1.3. Innervation des Pyeloureters	3
2. ZUR PHYSIOLOGIE DES PYELOURETERS	4
2.1. Zur normalen Funktion und pathophysiologischen Reaktionen des Pyeloureters	4
2.2. Die mechanische Spontanaktivität des Pyeloureters	6
2.3. Die elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters	7
2.3.1. Zum Membranpotential (MP)	7
2.3.2. Zum Aktionspotential (AP)	9
2.3.3. Zur ionalen Basis der Aktionspotentiale	10
2.4. Über die Elektrophysiologie des Pyeloureters	13
3. ZUR BIOPHYSIK UND PHARMAKOLOGIE DES PYELOURETERS	14
3.1. Einfluß der Osmolarität	14
3.2. Einfluß von Kalium und Tetraäthylammonium (TEA)	15
3.3. Einfluß von Calcium	16
3.4. Wirkung von Calciumantagonisten	17
3.5. Einfluß von Barium, Mangan und Magnesium	18
3.6. Wirkung von Procain	19
3.7. Einfluß von Natrium	20
3.8. Wirkung von Acetylcholin und Atropin	21
3.9. Wirkung von Sympathomimetika und Sympatholytika	22
III. METHODIK	25
1. NIERENBECKEN UND HARNLEITER VOM MEERSCHWEINCHEN	25
1.1. Präparation zur intrazellulären Ableitung	25
1.2. Präparation zur isotonischen Messung der mechanischen Aktivität	27
2. VORBEREITUNG VON HUMANPRÄPARATEN	28
3. LÖSUNGEN	28
4. INKUBATION DER PRÄPARATE	30
5. ZUR INTRAZELLULÄREN ERFASSUNG DER ELEKTRISCHEN AKTIVITÄT	31
5.1. Mikroelektroden	31
5.2. Meßanordnung	31
5.3. Versuchsdurchführung	34
6. ZUR ERFASSUNG DER MECHANISCHEN AKTIVITÄT	35

	Seite
7. VERWENDETE SUBSTANZEN	36
8. AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE	37
8.1. Kriterien für eine erfolgreiche elektrische Ableitung	37
8.2. Definition der Meßparameter	37
8.3. Isotonische und isometrische Messung	38
8.4. Auswertung der Meßergebnisse	39
8.5. Darstellung der Ergebnisse	40
IV. E R G E B N I S S E	41
1. VORVERSUCHE	41
2. AUSGANGSSITUATION	44
2.1. Qualitative Auswertung der mechanischen Spontan- aktivität des isolierten Pyeloureters von Mensch und Meerschweinchen	44
2.2. Qualitative Auswertung der elektrischen Spotan- aktivität des isolierten Pyeloureters des Meerschweinchens	48
2.3. Quantitative Auswertung der elektrischen Ausgangs- aktivität des isolierten Pyeloureters des Meerschweinchens	54
3. DER EINFLUß VON IONEN AUF DIE ELEKTRISCHE UND MECHANISCHE SPONTANAKTIVITÄT DES PYELOURETERS	57
3.1. Einfluß von Kaliumchlorid auf die elektrische und mechanische Spontanaktivität	57
3.1.1. Kalium-arme Lösung	57
3.1.2. Kalium-reiche Lösung	61
3.1.3. Kaliumeinfluß auf die mechanische Aktivität des Ureters	66
3.2. Einfluß von Calciumchlorid auf die elektrische und mechanische Spontanaktivität	68
3.2.1. Calcium-arme Lösungen	68
3.2.2. Calcium-reiche Lösungen	71
3.2.3. Calciumeinfluß auf die mechanische Aktivität des Ureters	75
3.2.4. Einfluß von Barium	76
3.2.5. Einfluß der Magnesium auf die elektrische und mechanische Spontanaktivität des Ureters	78
3.3. Bedeutung des Kalium-Calcium Verhältnisses für die elektrische und mechanische Aktivität des Ureters	82
3.4. Einfluß von Natriumchlorid auf die elektrische und mechanische Aktivität	89
3.4.1. Natrium-arme Lösung: Austausch von NaCl gegen Saccharose	89

	Seite
3.4.2. Natrium-arme Lösung: Austausch von NaCl gegen LiCl	96
3.4.3. Natriumeinfluß auf die mechanische Aktivität des Ureters: Austausch von NaCl gegen Saccharose	99
4. DER EINFLUß VON PHARMAKA	100
4.1. Ional wirkende Pharmaka	100
4.1.1. Einfluß von Tetraäthylammonium (TEA)	100
4.1.2. Einfluß von Pharmaka mit Calcium-Effekten	104
4.1.2.1. Manganchlorid	104
4.1.2.2. Verapamil	105
4.1.2.3. Nifedipin	106
4.1.3. Einfluß von Procain	108
4.2. Einfluß von Acetylcholin und Atropin	112
4.3. Sympathomimetika und Sympatholytika	113
4.3.1. Einfluß von Adrenalin und Phentolamin	113
4.3.2. Das α -Sympathomimetikum Phenylephrin	115
4.3.3. Das β_2 -Sympathomimetikum Fenoterol	116
6. ZUR INTRAZELLULÄREN ABLEITUNG VON AKTIONSPOTEN- TIALEN VOM MENSCHLICHEN PYELON UND URETER	117
V. D I S K U S S I O N	119
VI. Z U S A M M E N F A S S U N G	138
S U M M A R Y	140
V.I.I. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S	142

I. E I N L E I T U N G

In den letzten Jahren zogen die Erkrankungen der ableitenden Harnwege immer mehr Aufmerksamkeit auf sich (ANDERSON, 5). Harntransportstörungen, seien sie direkt oder indirekt, führen zu renalen Erkrankungen (zB. Pyelonephritis, Nephrolithiasis). Deshalb wurden die physiologischen Eigenschaften (elektrische und mechanische) des Pyeloureters in den letzten Jahren von CONSTANTINOU, DEL TACCA, GOLENHOFEN, HANNAPPEL, SHUBA und anderen Autoren gründlich untersucht (4, 23, 38, 41, 47, 65, 72, 86, 96, 99, 128). Dennoch bleiben noch viele Fragen ungeklärt. Unter anderem sind bis heute die Entstehung der autonomen Erregungsbildung des Pyeloureters, die Art und Funktion von Zellrezeptoren und der Ablauf pathophysiologischer Reaktionen nur teilweise geklärt.

Voraussetzung für die Beantwortung dieser Fragestellungen ist die systematische Erfassung der mechanischen und elektrischen Aktivitätsmuster des Pyeloureters, sowie die Klärung der Korrelation zwischen beiden. Beide hängen direkt von Ionenströmen ab. Deshalb hat die vorliegende Arbeit zum Ziel, geeignete Präparationstechniken und Inkubationsbedingungen zu finden, um die elektrische und mechanische Aktivität der ableitenden Harnwege relativ langfristig erfassen zu können. Dies erlaubt dann auch die Untersuchung der Einflüsse von Ionen und entsprechender Pharmaka.

Erste orientierende Untersuchungen an isolierten Präparaten des Pyeloureters des Menschen (Operationsmaterial) und des Meerschweinchens wurden bereits 1981 begonnen (unpublizierte Ergebnisse) und neuerdings veröffentlicht (MICHAILOV, NEU, PETTER, RATTEL, 104, 110, 115).

II. L I T E R A T U R U B E R S I C H T

1. ZUR MORPHOLOGIE DES PYELOURETERS

1.1. AUFBAU DES HARNLEITERS

Der Ureter ist ein glattnuskuläres Hohlorgan, dessen Wand aus drei Schichten besteht (GOSLING, 68; LUTZEYER, 100; NICKEL-SCHUMMER-SEIFELE, 111): aus einer Adventitia, einer Schicht aus glatter Muskulatur und einer den Innenraum auskleidenden Mukosa, welche sich aus dem Epithel (Urothelium) und der Lamina propria zusammensetzt. Hier soll vor allem auf den Aufbau der glatten Muskulatur eingegangen werden.

GOSLING (68) spricht von einem gleichmäßig dicken Glattnuskelschlauch. KENCH (83) dagegen stellte große Unterschiede in der Stärke der Muskelschicht fest. Selbst die Wanddicke der beiden Ureteren variiert stark. Die einzelnen Muskelbündel werden durch eine relativ große Menge an Bindegewebe voneinander getrennt. Die Muskelbündel zweigen sich außerdem sehr stark auf. So entsteht ein komplexes Maschenwerk aus Muskelbündeln, in dem sich nicht mehr, wie früher angenommen, drei Muskelschichten unterscheiden lassen. Deshalb geht man heute von einer "scherengitterartigen Verflechtung" der Muskulatur aus (LUTZEYER, 100), die sich von längs außen über die Mitte nach längs innen dreht. Diese Anordnung bestimmt die "enorme peristaltische Potenz" des Ureters. Histochemisch zeichnen sich die glatten Muskelzellen des Ureters durch einen hohen Gehalt an unspezifischer Cholinesterase aus, wodurch sie von anderen glatten Muskelzellen des Harntrakts gut unterschieden werden können (GOSLING, 68).

1.2. AUFBAU DES NIERENBECKENS

Die Wand des Pyelons (Pelvis renalis nach N.A.V. 1983) ist ebenfalls aus den drei Schichten Adventitia, Muskularis und Mukosa zusammengesetzt, wobei die Struktur von Adventitia und Mukosa der des Ureters entspricht. Die glatte Muskulatur unterscheidet sich jedoch sowohl morphologisch, als auch histochemisch von der des Ureters (DIXON, 45). Es ist möglich, "typische" Muskelzellen von "speziellen (atypischen)" Muskel-

zellen zu trennen (GOSLING, 68; RIZZO et al., 122). Die "typischen" Muskelzellen sind in Bündeln angeordnet und entsprechen denen in der Ureterwandung. Auch hier behalten sie die oben "beschriebene scherengitterartige Struktur" bei. Die "atypischen" Muskelzellen kleiden die Nierenkelche und das Nierenbecken aus. Sie bilden eine dünne Innenschicht, die außen von "typischen" Muskelzellen umhüllt ist (GOSLING, 68). Die "atypische" Muskelschicht verbindet sogar durch das Nierenparenchym hindurch die Ansätze benachbarter Nierenkelche. Sie ist nur in den Nierenkelchen und dem Nierenbecken bis zum Übergang von Nierenbecken zum Harnleiter nachzuweisen. Histochemisch unterscheiden sich die "atypischen" von den "typischen" Muskelzelltypen dadurch, daß sie frei von unspezifischer Cholinesterase sind. Sie weisen ferner einen geringeren Gehalt an Myofilamenten auf, die durch Bereiche getrennt werden, die reich an granulärem (GOSLING, 68) bzw. agranulärem (RIZZO, 122) endoplasmatischen Retikulum sind.

Auf Grund ihrer Untersuchungen kommen DIXON (45), sowie GOSLING (68) und RIZZO (122) zu dem Schluß, daß es sich bei den "atypischen" Muskelzellen um Schrittmacherzellen (pacemaker cells) handelt, die für die Steuerung der Ureterperistaltik verantwortlich sind.

1.3 INNERVATION DES PYELOURETERS

Nach LUTZEYER (100) sind es in der Regel sympathische Nervenfasern, die für die Innervation verantwortlich sind. Sie gehen vom Splanchnicus major und minor aus und treten über ganglionäre Schaltzentren (Ggl. coeliacum und Ggl. mesenteriale craniale) als terminales Retikulum in den Harnleiter und das Nierenbecken ein. Das Auftreten dieser autonomen Nervenfasern ist jedoch im Vergleich zur Blase sehr gering. Intramurale Ganglienzellen wurden im abdominalen Harnleiterverlauf bisher noch nicht gefunden (GOSLING, 68; KENCH, 83). Nervenbahnen, die propriozeptive Reize empfangen und sie in Form der Headschen Zonen projizieren, sind der N. iliohypogastricus und der N. ilioinguinalis. Das autonome Nervensystem scheint bei der Kontrolle des oberen Teils der harnableitenden Harnwege eine untergeordnete Rolle zu spielen.

2. ZUR PHYSIOLOGIE DES PYELOURETERS

2.1. ZUR NORMALEN FUNKTION UND PATHOPHYSIOLOGISCHEN REAKTIONEN DES PYELOURETERS

Die Niere ist das wichtigste Organ zur Erhaltung einer konstanten Zusammensetzung der extrazellulären Flüssigkeit und zur Ausscheidung endogener organischer Substanzen. Um diese Aufgaben erfüllen zu können, muß ein ungehinderter Harnabfluß gewährleistet sein.

Da der intrarenale Harntransport durch den Tubulusapparat und die Sammelrohre rein passiv entlang dem Druckgefälle zwischen Glomerula und Nierenkelch und -becken folgt, kommt dem hydrostatischen Niederdrucksystem des Nierenbeckens (10 mm Hg) eine entscheidende Bedeutung zu (LUTZEYER, 100). Vom Nierenkelch wird der Harn durch einen aktiven Pumpmechanismus des Nierenbeckens und vor allem des Harnleiters zur Blase befördert. Diese peristaltische Kontraktionswelle wird nach GOLENHOFEN (64), CONSTANTINOU (41) und ZAWALINSKI (143) im Nierenbecken ausgelöst. Unter physiologischen Bedingungen verursachen diese peristaltischen Kontraktionen im Nierenbecken nur eine geringe Druckschwankung von 1-2 mm Hg. Bei einer Kontraktionswelle wird der Ureter proximal eng und distal zugleich kurz und weit gestellt. Die Ureterdynamik ist nach LUTZEYER (100) in der Lage die stark schwankende Menge an Urin (bis um den Faktor 10) vom Nierenbecken zur Blase zu transportieren.

Die Ureterperistaltik wird durch Störungen der Blasendynamik beeinflusst. So besteht nach ALBRECHT (3) physiologischerweise bei zunehmender Blasenfüllung ein Druckgefälle von der Blase zum distalen Ureter, das sich bei der Miktion durch den Druckanstieg auf 40-80 mm Hg erhöht. Dieses Druckgefälle wird durch die geometrische Anordnung und die muskuläre Feinstruktur der Junctio ureterovesicalis aufrechterhalten. Der intraureterale Druck darf also nur bei einer peristaltischen Kontraktion des Ureters über dem intravesicalen Druck liegen, um den Urinbolus in die Blase zu befördern. Ist dies nicht der Fall, so kommt es zum Reflux von Urin in den Harnleiter. Dieser Reflux kann eine Antiperistaltik induzieren, die durch Interferenz mit der physiologischen Peristaltik den Pumpmechanismus des Harnleiters zum Erliegen bringt. Im Interferenzknoten kann eine

funktionelle Ureterstenose entstehen. Eine andere Art der funktionellen Ureterstenose wird durch ein aperistaltisches Segment der Uretermuskulatur ausgelöst. Sie beruht wahrscheinlich auf einem Mißverhältnis von Muskelmasse zu Bindegewebe. Sowohl diese funktionelle als auch die obstruktive Ureterstenose, die vor allem durch Verlegung des Lumens durch Steine ausgelöst wird, bedingen einen prästenotischen Anstieg des intraluminalen Druckes im Harnleiter und eine prästenotische Urinstase. Folgen sind Urothelschädigung, Minderdurchblutung und eine zunehmende Fibrose der Harnstauungsniere (STÖBER, 134). Die Druckfiltration der Glomerula sistiert, und es kommt zu einer progredienten Druckatrophie des Nierenbeckens.

Die Reaktion der Ureterdynamik auf Diurese und Stenosen läßt sich nach LUTZEYER und HANNAPPEL (99, 100) folgendermaßen schematisieren:

1. Diurese: Zunahme der Kontraktionsfrequenz, Erhöhung des Tonus, Verbreiterung der Kontraktionskomplexe.
2. akute Stauung: Zunahme der Kontraktionsfrequenz, Erhöhung des Tonus, Reduktion der Diastole durch Diastolenverlust, Übergang zum unregelmäßigen Kontraktionsrhythmus.
3. chronische Stauung: Stark erhöhte Kontraktionsfrequenz bei normalem Basisdruck und kleinen Druckamplituden, geringe Effektivität der Kontraktionen.

Nach EIGLER (51) und STÖBER (134) kommt den obstruktiven Uropathien und dem vesikoureteralen Reflux im Zusammenhang mit aufsteigenden Harnwegsinfektionen eine große Bedeutung zu, da bei beiden Erkrankungen der Selbstreinigungsmechanismus der abführenden Harnwege gestört ist. Beim vesicoureteralen Reflux kommt es in Abhängigkeit von dem bei der Miktion entwickelten Blasendruck zum Zurückströmen von nicht mehr sterilem Urin aus der Blase in den Harnleiter und das Nierenbecken. Dieser pendelnde Urin und die Restharnbildung verlängern die Verweildauer aufsteigender Bakterien, in den oberen Harnwegen. Es kommt zu einer Vermehrung der Bakterien und in der Folge entsteht in den meisten Fällen eine aufsteigende Pyelonephritis (Refluxnephropathie). Nach ALBRECHT (3) finden sich bei akuten Infekten ohne Abflußbehinderung spastisch enggestellte Harnwege mit erhöhter

Peristaltik. Bei chronischen Harnwegsinfekten tritt dagegen eine zunehmende Atonie der Harnwege auf.

2.2. DIE MECHANISCHE SPONTANAKTIVITÄT DES PYELOURETERS

Ähnlich wie viele glattmuskuläre Organe (AXELLSON, 7; GILLESPIE, 59; GOLENHOFEN, 62, 66; KÖLLING, 89) zeigt bekanntlich auch der Pyeloureter in vivo und in vitro eine mechanische Spontanaktivität (GOLENHOFEN, 64; TINDALL, 137; HANNAPPEL, 69; MICHAILOV, 101). Diese scheint myogen bedingt zu sein (GOLENHOFEN, 64). Darauf weisen auch Versuche hin, bei denen weder Tetrodotoxin (KUWAHARA, 96; TONINI, 138) noch Atropin (GOLENHOFEN, 64) die spontane mechanische Aktivität aufheben konnten. Auch Lidocain hemmte die mechanische Aktivität der V. portae in lokalanästhetischer Konzentration nicht (JOHANNSON u. LJUNG, 79). Wurde Lidocain jedoch höher dosiert, so kam es zu einer konzentrationsabhängigen Unterdrückung der mechanischen Aktivität.

HANNAPPEL (69) und GOLENHOFEN (64) beobachteten beim Meerschweinchen in situ eine Kontraktionsfrequenz des Ureters von 6-7/min. LUTZEYER (99) und HANNAPPEL (69) beschrieben bei spontan aktiven Muskelstreifen aus verschiedenen Bereichen des Pyeloureters (Pelvis renalis, Übergang zum Ureter, Ureter) eine Abnahme der Frequenz von proximal nach distal. An der Schweine-niere beobachteten LUTZEYER u. HANNAPPEL (99) folgende Kontraktionsmuster: eine gleichmäßige hochfrequente Aktivität im Bereich der Nierenkelche, eine gleichmäßige niederfrequente Aktivität mit einzelnen Ausbrüchen hochfrequenter Aktivität im Nierenbecken und weiter distal burstartige Kontraktionsphasen, die von längeren Ruhephasen voneinander getrennt sind.

GOLENHOFEN (64) und CASTEELS et al. (33) konnten am isolierten Ureter nur eine Spontanaktivität nachweisen, wenn dieser im Verband mit dem Nierenbecken entnommen wurde. Dies bestätigten MICHAILOV u. HOHLBRUCKER (103) nicht, denn sie beobachteten auch an isolierten Ureterpräparaten des Meerschweinchens und des Menschen eine spontane mechanische Aktivität mit einer Frequenz von 3-4/min. LONGRIGG (98) und KUWAHARA (96) konnten nur an zwei von zehn isolierten Organstückchen des menschlichen Nierenbeckens bzw. Ureters eine mechanische Spontanaktivität nachweisen. Die genauen Mechanismen, die diese myogen-automatische Aktivität

entstehen lassen, sind noch nicht geklärt worden. Jede mechanische Aktivität ist synchron mit einer spontanen elektrischen Aktivität gekoppelt (AXELLSON, 8; GILLESPIE, 59; GOLENHOFEN, 66).

2.3. DIE ELEKTRISCHE SPONTANAKTIVITÄT DES PYELOURETERS

2.3.1. ZUM MEMBRANPOTENTIAL (MP)

Die Membranspannung wird durch die ungleiche Verteilung von verschiedenen Ionen zwischen dem Zellinneren und dem sie umgebenden Extrazellulärraum verursacht.

Zur genaueren Beschreibung dieses Gleichgewichtes müssen zunächst folgende Größen betrachtet werden (ADAM, 2; DUDEL, 49; BECKER, 10):

I. Elektrisches Potential an einem bestimmten Punkt r :

$$\Phi(\vec{r}) = \int \frac{\sigma(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\tau$$

σ = Ladungsdichte

II. Elektrochemisches Potential:

$$\tilde{\mu}_i = \mu_i + z_i \cdot F \cdot \Phi$$

μ_i = chemisches Potential

z_i = Wertigkeit

F = Faraday Konstante

Φ = elektrisches Potential in der betreffenden Phase

$z_i \cdot F \cdot \Phi$ ist die elektromagnetische Energie von 1mol Ionen mit der Wertigkeit i , die sich an einem Ort mit dem Potential Φ befinden. $\tilde{\mu}_i$ ist also die Summe der chemisch freien Enthalpie und der elektrostatischen Energie $z_i \cdot F \cdot \Phi$.

In verdünnter Lösung erhält man durch Umformen aus II für einen Gleichgewichtszustand an einer Membran:

$$\text{Gleichgewichtsspannung } E = \Phi_i - \Phi_a = - \frac{R T}{z F} \ln \frac{c_a}{c_i}$$

z = Wertigkeit der in der Membran permeablen Ionenart

Φ_i = elektrisches Potential an der Innenseite der Membran

Φ_a = elektrisches Potential an der Außenseite der Membran

Die Gleichgewichtsspannung E (V_m) wird als Membranpotential oder Nernstpotential bezeichnet.

Da eine Zellmembran in Wirklichkeit aber für mehrere Ionenarten permeabel ist (im wesentlichen für K^+ , Na^+ , Ca^{++} , und Cl^-), und jede Ionenart ihr spezifisches Konzentrationsverhältnis c_a / c_i besitzt, wird das tatsächlich vorhandene Membranpotential besser mit der GOLDMANN-Gleichung (60) beschrieben:

$$V_m = \frac{R T}{F} \ln \frac{\sum P_v \cdot a_v^a + \sum P_u \cdot c_u^i}{\sum P_v \cdot a_v^i + \sum P_u \cdot c_u^a}$$

R = Gaskonstante (8,31 Joule / mol * Grad)

T = 293 Kelvin

F = Faraday Konstante (96500 Coulomb / mol)

P = Permeabilitätskoeffizient

i innen

a außen

v = Index für Kationen

u = Index für Anionen

Bisher wurde das Membranpotential nur als elektrochemisches Potential, das durch Konzentrationsgradienten und Permeabilitätsdifferenzen aufrechterhalten wird, dargestellt. Bei glatten Muskelzellen ist jedoch der aktive Transport von Ionen unmittelbar an der Erzeugung des Membranpotentials beteiligt (CASTEELS, 33; BURNSTOCK, 31). Hier ist das Membranpotential niedriger als der durch die Goldman-Gleichung ermittelte Wert. So errechneten CASTEELS et al. (37) für die Pulmonalarterie des Kaninchens ein Potential von -31 mV, während der mit Mikroelektroden ermittelte Wert um 25 mV niedriger lag. Dieses Phänomen wurde von CASTEELS et al. (35) und KURIYAMA et al. (92) auch an der T. coli des Meerschweinchens beschrieben. Die zusätzliche negative Spannung wird durch die Natriumpumpe erzeugt, welche elektrogen, also nicht unter Kompensation der transportierten positiven Ladung von Na^+ , Natriumionen vom Zellinneren nach außen transportiert. Bei einer Blockade der Natrium-Kanäle nähert sich das Membranpotential schnell dem der Nernst- oder Goldmangleichung entsprechenden Wert.

Als Ruhemembranpotential bezeichnen BURNSTOCK (31), KÖLLING (89) und RIEMER (118) die maximale Membranpolarisierung zwischen zwei Aktionspotentialen, die mit Hilfe von Mikroelektroden gemessen wird. BENNETT (12) und KURIYAMA (93) registrierten an der glatten Muskulatur des Meerschweinchenureters ein Ruhemembranpotential zwischen -50 und -60 mV.

2.3.2. ZUM AKTIONSPOTENTIAL (AP)

Aktionspotentiale sind kurz andauernde, mehr oder weniger starke Depolarisationen des Ruhemembranpotentials in positiver Richtung (DUDEL, 49). Dem Aufstrich folgt eine Repolarisationsphase, die auch so langsam ablaufen kann, daß eine Plateauphase entsteht, bevor die volle Repolarisation eintritt. Die Zeitabläufe der De- und der Repolarisation sind für die verschiedenen Arten der Muskulatur typisch. JOHANNSON u. SOMLYO (80) sowie BURNSTOCK et al. (31) beschreiben verschiedene Arten von Aktionspotentialen der glatten Muskelzellen. Sie unterscheiden einen Spiketyp, einen Plateautyp mit einem längeren Zeitverlauf und einen Typ mit komplexem Erscheinungsbild. Speziell am Ureter wurden folgende Formen beobachtet: Mit Hilfe der Saccharose-Trennwandtechnik registrierten CUTHBERT (43), KURIYAMA (93), GOLENHOFEN

(63), OSHIMA (113) eine komplexe Form der elektrischen Aktivität. Sie setzt sich aus einer anfänglichen schnellen Komponente mit oszillierenden hochfrequenten Spikes, deren Amplitude langsam abnimmt, und aus einer sich daran anschließenden langsamen Komponente, der Plateauphase, zusammen. Diese Beobachtungen bestätigte SHUBA (125) mit der Voltage-Clamp-Methode. GOLENHOFEN (65) und ZAWALINSKI (143) leiteten Aktionspotentiale aus unterschiedlichen Bereichen des Pyeloureters ab. Sie kamen dabei zu dem Schluß, daß im proximalen Bereich des Pyeloureters die Plateauphase besonders stark ausgeprägt ist und mit der Entfernung zum Nierenbecken schwächer wird. Die oszillierenden Spikes nehmen dabei zu. BURNSTOCK (30) registrierte als einziger Autor auch spikeartige Aktivitäten (Saccharose-Trennwand-Technik). Aus isolierten menschlichen Ureteren gelang es KUWAHARA (96) mit der gleichen Methode Aktionspotentiale abzuleiten. Es handelte sich dabei um einen einzigen Aufstrich, dem eine langsame Repolarisationsphase (Plateauphase) folgte.

Die maximale Geschwindigkeit der Depolarisation der glatten Muskelzelle des Ureters ist langsamer als die anderer glatter Muskulatur. ABE (1), KÖLLING (89), HOLMAN (75) und KURIYAMA (94) fanden für die T. coli Werte zwischen 4 und 25 V/sec, KURIYAMA (95) für die V. portae einen Wert von 7V /sec. Für den Meerschweinchenureter gab OSHIMA (113) eine maximale Anstiegsgeschwindigkeit zwischen 1,9 und 6,8 V/sec an. KUWAHARA (96) beobachtete am menschlichen Ureter eine sehr langsame Anstiegsgeschwindigkeit von 0,06 - 0,40 V/sec. Diese Werte sind sehr niedrig, wenn man sie mit denen anderer glatter Muskelzellen vergleicht.

2.3.3. ZUR IONALEN BASIS DER AKTIONSPOTENTIALE

Wird, wie bei einem Aktionspotential, das Ruhemembranpotential rasch geändert, so tritt ein Membranstrom auf, der von der Entladung der Membrankapazität herrührt. Der Gesamtstrom I setzt sich additiv aus einem Natrium- und einem Kaliumionenstrom zusammen. Dazu kommt noch ein geringfügiger Leckstrom I_L , der im wesentlichen durch Chlorionen verursacht wird:

$$I = I_{Na} + I_K \quad (+ I_L)$$

Es zeigte sich, daß die relativen Anteile von I_{Na} und I_K am Gesamtstrom I zeitlich stark variieren. Dies belegten Untersuchungen, bei denen das Außenmedium variiert wurde (Ersatz von Natrium durch Cholin) oder der Natriumstrom mit Tetrodotoxin (TTX) bzw. Kalium durch Tetraäthylammonium (TEA) blockiert wurde. Die selektive Blockierbarkeit der Natrium- bzw. Kalium-Leitfähigkeit legte den Schluß nahe, daß diese beiden Ionen getrennte Wege durch die Membran benutzen. Diese sogenannten Na^+ - und K^+ -Kanäle sind durch elektrische Felder steuerbar.

Eine Verminderung der Natriumkonzentration müßte demnach zu einer verminderten Depolarisation führen. Dies trifft auch für elektrophysiologische Untersuchungen an Nervengewebe und an quergestreiftem Muskelgewebe zu (HODGKIN, 73). Untersuchungen an der glatten Muskulatur haben jedoch immer mehr zu der Auffassung geführt, daß die Depolarisationsphase des Aktionspotentials nicht durch einen Natrium-, sondern durch einen Calciumeinstrom ausgelöst wird. Folgende Befunde stützen diese Hypothese eines Calcium-Spikes (Brading et al., 19):

Eine Blockade der Na^+ -Kanäle durch TTX hat bei vielen glattmuskulären Geweben keinen Einfluß auf die elektrische Spontanaktivität (NONOMURA, 112; TONINI, 138).

ERNST (52) und KÖLLING (89) beobachteten an der V. portae und der T. coli des Meerschnechens trotz völliger Abwesenheit von Natriumionen in der Extrazellulärflüssigkeit spontan auftretende Aktionspotentiale. UVELIUS et al. (141) ersetzten das Natriumchlorid einer Calcium-freien Inkubationslösung durch Saccharose. Nach einer Hemmung der elektrischen Spontanaktivität konnten sie durch die Zugabe von Strontium und Barium trotz der Abwesenheit von Natrium und Calcium wieder spontane Aktionspotentiale induzieren. LAMMEL (97) schloß bei seinen Untersuchungen die Möglichkeit eines biionischen Aktionspotentials aus Ca^{++} - und Na^+ -Ionen nicht aus. Er belegte ferner, daß es sich bei dem Ca^{++} -Influx nicht um eine einfache Permeabilitätsänderung der Zellmembran handeln kann.

RIEMER (120), GOLENHOFEN (63) und LAMMEL (97) blockierten den Ca^{++} -Influx der glatten Muskulatur durch die Zugabe von Verapamil. Dabei wurde bevorzugt die Spikeaktivität des Aktionspotentials unterdrückt. RIEMER (118) wies ferner durch die Erhöhung der Calciumkonzentration einen positiven Effekt von Ca^{++} -Ionen

auf die Schrittmacheraktivität der *T. coli* nach GÖLENHOFEN (66) spricht sogar von einem "Calcium-Spike". Er postuliert eine Doppelnatur der Calcium-Aktivierungsprozesse (P- und T-System). Das P-System soll der phasischen, das T-System der tonischen Aktivität dienen. Es handelt sich dabei nicht um eine zelluläre, sondern um eine subzelluläre Spezialisierung, um die Herausbildung phasischer und tonischer Spezialprozesse in ein und derselben Zelle, die durch Calcium gesteuert werden. Neben diesem Calcium-Spike-System besitzt der Ureter nach GÖLENHOFEN (66) auch eine basale organspezifische Rhythmik (BOR), die vorwiegend an Na^+ -Ionen gebunden scheint.

VAN BREEMEN (21) konnte die anfängliche Spikekomponente mit Calciumantagonisten, nicht aber durch Verminderung der Natriumkonzentration unterdrücken. Natrium schien ihm vor allem für den Ablauf der Plateauphase entscheidend zu sein.

BOLTON (16) und TOWART (140) unterscheiden potentialsensitive und rezeptorgesteuerte Ca^{++} -Kanäle:

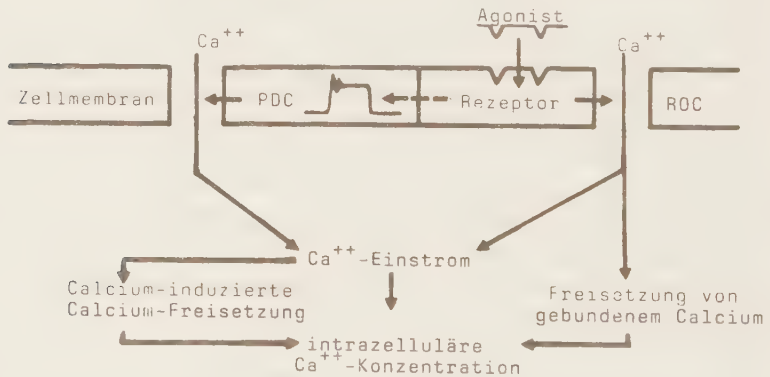


Abb. 1: Wirkung der "potential dependent" Ca^{++} -Kanäle (PDC) und der "receptor operated" Ca^{++} -Kanäle (ROC).

Die potentialsensitiven Ca^{++} -Kanäle sind für die Auslösung des ersten schnellen Spikes des Aktionspotentials verantwortlich, während die anderen Ca^{++} -Kanäle durch Rezeptoren gesteuert werden, die mit bestimmten Substanzen stimuliert werden können. Die rezeptorgesteuerten Ca^{++} -Kanäle unterstützen die Hypothese einer pharmakomechanischen Kopplung. Sie erhöhen abhängig von der Konzentration des zugeführten Agens die intrazelluläre Ca^{++} -Konzentration, was zu einer verstärkten Ausbildung der

Kontraktion führt, ohne die Bildung des Aktionspotentials zu beeinflussen.

Obwohl vieles für dieses Calcium-abhängige Aktivierungssystem spricht, wies KEATINGE (82) an der A. carotis auch in Calcium und Magnesium-freien Lösungen Aktionspotentiale nach. Erst bei einem Ersatz von NaCl durch Tris- oder Cholinchlorid war die Spontanaktivität völlig gehemmt.

2.4. ÜBER DIE ELEKTROPHYSIOLOGIE DES PYELOURETERS

Hier stellt sich die Frage, ob einzelne Glattmuskelzellen des Ureters in der Lage sind, eine eigene Spontanaktivität zu entwickeln, oder ob sie von übergeordneten Zentren dazu angeregt werden. BOZLER (18) zählt den Ureter zu den "unitary muscles". Diese Muskelzellen verhalten sich wie autonome Einheiten, die alle spontan aktiv sein können. BURNSTOCK (18) teilt die glatte Muskulatur des Ureters in "effector-bundles" mit hochentwickelten Kontaktstellen ein. In bestimmten Bereichen dieser Bündel befinden sich direkt innervierte "key-cells", die dann die Aktionspotentiale an Nachbarzellen weiterleiten.

Neuere Arbeiten konzentrieren sich auf das Nierenbecken, das allgemein als Reizbildungszentrum ("pacemaker") für die Ureterperistaltik angesehen wird. GOLENHOFEN UND HANNAPPEL (64) stellten schon 1972 fest, daß isolierte Ureterpräparate eine Spontanaktivität nur dann aufweisen, wenn auch die proximalen Anteile des Nierenbeckens erhalten bleiben. HANNAPPEL (72) bestätigte dies an der Schweineniere. Er stellte folgende Theorie für die Auslösung der Ureterperistaltik auf: In den Nierenkelchen existieren mehrere übergeordnete Reizbildungszentren; ein zweites Zentrum liegt am Übergang von Nierenbecken zum Harnleiter; beide Prozesse sind gemeinsam an der Ausbildung der Ureterperistaltik beteiligt.

ZWALINSKI (143) stellt, wie auch für die mechanische Aktivität beschrieben, ein Frequenzgefälle der elektrischen Aktivität von proximal nach distal fest. Er vermutete, daß nur ein gewisser Teil der elektrischen Aktivität eine mechanische Aktivität auslöst.

CONSTANTINOU (39) wies nach, daß ein erhöhter Harnfluß die elektromechanische Kopplung verbessert und fast jedes Aktions-

potential eine mechanische Kontraktion auslöst. In seinen letzten Arbeiten stellte CONSTANTINOU (41) das Modell eines "multiple-coupled pacemaker" -Systems vor. Jeder Anteil des Nierenbeckens ist nach dieser Theorie ein kleiner Oszillator. Diese Oszillatoren sind miteinander gekoppelt, wobei die Zentren einer Ebene die gleiche Frequenz besitzen, während zwischen den proximalen und distalen Bereichen des Nierenbeckens ein Frequenzgefälle besteht. Der treibende und bestimmende Oszillator besitzt immer eine höhere Frequenz als der angetriebene. Somit ergibt sich eine unidirektionale Erregungswelle von dem proximalen Ende des Nierenbeckens bis zum distalen Ureter.

MORITA (108) leitete an Hunden in vivo Elektromyogramme aus verschiedenen Bereichen des Nierenbeckens und des Harnleiters ab. Dabei wies er in den proximalen Anteilen des Nierenbeckens ein hochfrequentes Reizbildungszentrum nach, das von der Diurese unabhängig ist. Im Gegensatz dazu wird die Aktionspotentialfrequenz im distalen Bereich des Nierenbeckens und des Ureters durch die Diurese deutlich erhöht. Die Depolarisation der Muskelzellen im Nierenbecken war geringer als im Ureter.

3. ZUR BIOPHYSIK UND PHARMAKOLOGIE DES PYELOURETERS

3.1. EINFLUSS DER OSMOLARITÄT

HODGKIN (74), EBASHI (50), und FUCHS (57) wiesen in ihren Untersuchungen eine Hemmung der elektromechanischen Kopplung durch eine hypertone Saccharoselösung nach. Sie führten dies auf osmotische Effekte und dem sich daraus ergebenden Anstieg der sarcoplasmatischen Konzentration an Elektrolyten zurück. TAYLOR (136) zeigte, daß bei einer Hypertonie von weniger als dem 2,5-fachen der normalen Inkubationslösung der Ca^{++} -Ausstrom aus dem SR nicht beeinträchtigt wird. Wird diese Grenze überschritten, so wird die Calciumfreisetzung beeinträchtigt. Diesen Effekt verwendeten viele Autoren bei intrazellulären Ableitungen, um in das so ruhiggestellte Präparat die Elektrode leichter einstecken zu können (ITO, 78; KURIYAMA, 95).

Eine hypertone Inkubationslösung beeinflusst jedoch auch die elektrische Spontanaktivität und das Ruhemembranpotential. So

beobachteten AXELLSON (6, 8), JONSSON (81) und ERNST (52) an Blutgefäßen in einer hypertonen Lösung eine Membranhypertolarisation und eine Abnahme der Spontanaktivität. ITO u. KURIYAMA (78) sowie OSHIMA (111) bestätigten dies jedoch nicht. Sie registrierten an der Pfortader und am Harnleiter des Meerschweinchens bei einer Erhöhung der Osmolarität um das 2,5-fache eine Depolarisation der Zellmembran um 14 mV. OSHIMA (113) wies ferner eine verlängerte Chronaxie, eine erhöhte Zeitkonstante der Membran und eine verminderte Reizleitungsgeschwindigkeit in hyperosmolaren Lösungen nach. Er führte dies, wie auch SIGURDSSON (130), auf ein vermindertes Zellvolumen zurück. Veränderungen der Osmolarität beeinflussen die Natrium-abhängige Plateauphase stärker als die Calcium-abhängige Spikekomponente.

3.2. EINFLUß VON KALIUM UND TETRAÄTHYLAMMONIUM (TEA)

Dem Kalium kommt neben Natrium und Calcium eine entscheidende Rolle bei der Ausbildung des Membranpotentials (KURIYAMA 92, 95; CASTEELS, 33, 36) und der Form der elektrischen Aktivität zu. Eine Erhöhung der Kaliumkonzentration in der Inkubationslösung bedingt eine Depolarisation der Zellmembran, eine Verminderung dagegen eine Hyperpolarisation.

REIMNITZ (116) setzte den totalen Kaliumgradienten des Pyeloureters in Beziehung zur AP-Frequenz. Die Muskelzellen des proximalen Teils des Nierenbeckens wiesen den höchsten Gehalt an Kalium auf. Hier war die AP-Frequenz am höchsten. Sowohl der Kaliumgradient als auch die AP-Frequenz fielen mit der Entfernung zum proximalen Teil des Nierenbeckens ab.

SHUBA (127, 128) wies in seinen Versuchen mit Meerschweinchenureteren nach, daß in Kalium-freier Lösung die AP-Dauer verkürzt ist. Tetraäthylammonium (TEA), das spezifisch den Efflux von Kaliumionen hemmt, verstärkte die Amplitude der anfänglichen Spikekomponente und verlängerte die Plateauphase. Superponierte Spikes wurden durch TEA gedämpft und der Schwellenwert des Aktionspotentials erniedrigt.

BOLTON (16) und BURNSTOCK (29) führten die Verlängerung der Plateauphase durch TEA auf eine verzögerte Repolarisation zurück. Sie konnten keinen Einfluß von TEA auf das Membranpotential nachweisen.

Nach HANNAPPEL (72) beeinflußt TEA auch die elektromechanische Kopplung. Es erhöht die Rate der von den elektrischen Grundoszillationen ausgelösten Aktionspotentiale und damit auch die Frequenz der mechanischen Kontraktionen. Wahrscheinlich setzt TEA, wie oben schon erwähnt, den Schwellenwert zur Auslösung eines Aktionspotentials so weit herab, daß selbst kleine Membrandepolarisationen ein Aktionspotential auslösen können. HOLMAN (75) erhöhte die Kaliumkonzentration bis um das 20-fache. Er beobachtete an der *T. coli* eine starke Membrandepolarisation und einen Frequenzanstieg des Aktionspotentials. Die Spikeamplitude nahm ab, und von einer 10-fachen Kaliumkonzentration an war die Spontanaktivität gehemmt. Die Reduktion der Kaliumkonzentration bewirkte nach einem anfänglichen Frequenzanstieg einen Frequenzabfall der Aktionspotentiale bis zur völligen Hemmung der elektrischen Aktivität. Das Ruhemembranpotential war hyperpolarisiert.

3.3. EINFLUß VON CALCIUM

Wie schon besprochen, ist Calcium für die anfängliche Spikekomponente der elektrischen Aktivität von grundlegender Bedeutung. SHUGARD-REIMNITZ (129) untersuchte den Calciumgradienten im Nierenbecken von Kaninchen. Die Calciumkonzentration und die Kontraktionsfrequenz waren im proximalen Teil des Nierenbeckens viel höher als im distalen. Es konnte jedoch keine direkte Beziehung zwischen dem Calciumgehalt der Zellen und der Kontraktionsfrequenz hergestellt werden. Auch nach RIEMER (118) ist die Frequenz in einem verhältnismäßig weiten Bereich der Konzentrationssteigerung unabhängig von der extrazellulären Calciumkonzentration.

BÜLBING u. KURIYAMA (27) beobachteten in Calcium-freier Lösung nach wenigen Minuten ein Erlöschen der elektrischen Aktivität und eine völlige Relaxation des Muskels. Sie wiesen ferner eine direkte Abhängigkeit sowohl der An- und Abstiegsgeschwindigkeit als auch der Amplitude des Aktionspotentials von der Calciumkonzentration nach.

BENNETT (11) und KOBAYASHI (84, 85) beobachteten am Meerschweinchen- und am Katzenureter einen Anstieg der Amplitude bei Erhöhung der Calciumkonzentration. Dies bestätigten auch TOMITA (139) und BRADING (19). Sie beschrieben darüber hinaus eine

Depolarisation des Membranpotentials bei Ca^{++} -Entzug und eine Hyperpolarisation bei Ca^{++} -Zugabe.

KÖLLING (89) hemmte wie HOLMAN (75) die Muskulatur der T. coli des Meerschweinchens durch eine 4-fache Erhöhung der Calciumkonzentration. Er hob diese Hemmung jedoch durch die Zugabe von Kalium wieder auf.

KOBAYASHI (85) und KÖLLING (89) konnten die Blockade der elektrischen Aktivität in Natrium-freier Lösung durch eine starke Zufuhr an Calcium aufheben.

AXELSSON (7) beschrieb den Einfluß der Calciumkonzentration an der Pfortader auf die Form der elektrischen Aktivität: Die Erhöhung der Calciumkonzentration verlängerte die Burstdauer, während ihre Verminderung die Burstdauer verkürzte.

3.4. WIRKUNG VON CALCIUMANTAGONISTEN

NAYLER (109) hemmte mit Verapamil und Nifedipin spezifisch die langsamen Ca^{++} -Kanäle der Herzmuskulatur. Er lehnt den von FLECKENSTEIN (54) geprägten Begriff des " Ca^{++} -Antagonisten" ab und zieht die Bezeichnung "slow channel inhibitor" vor. Verapamil hemmte in hohen Konzentrationen im Gegensatz zu Nifedipin auch den Natriumstrom.

FLECKENSTEIN (55) beobachtete an der glatten Muskulatur des Rattenuterus eine Blockade der elektromechanischen Kopplung bei gleichzeitiger Dämpfung der Membranerregbarkeit. Dies hatte eine völlige Relaxation des Uterus zur Folge. Sie konnte aber wie an anderen glattemuskulären Organen durch eine 4-5 fache Erhöhung der Calciumkonzentration wieder aufgehoben werden (ERNST, 52; NAYLER, 109; KÖLLING, 89). Calciumantagonisten scheinen also mit den Calciumionen an den potentialsensitiven Calciumkanälen zu konkurrieren, die für die anfängliche Spikekomponente verantwortlich sind. Dies bestätigte auch BOLTON (17).

IONOMATA u. KAO (77) zeigten auch mit Hilfe der Voltage-Clamp-Technik, daß die Ca^{++} -Antagonisten den frühen Ca^{++} -Einstrom in die Zelle und damit auch die Spikebildung behindern.

GOLENHOFEN u. LAMMEL (63) sowie RIEMER et al. (120) beobachteten an der T. coli und am Ureter des Meerschweinchens, daß die Calciumantagonisten die spontane Spikeentladung, die Spikeamplitude, die maximale Anstiegs- und Abstiegsgeschwindigkeit und die mechanische Aktivität hemmten; die Form des Aktionspo-

tentials am Ureter näherte sich immer mehr der Form an der Herzmuskulatur an; hohe Dosierungen führten schließlich zu einer Unterdrückung der elektrischen Spontanaktivität. Dabei waren jedoch bei der *T. coli* die basalen organspezifischen Rythmen (BOR) nicht betroffen (GOLENHOFEN, 66).

SHUBA (127) konnte dies in seinen Versuchen mit Meerschweinchenureteren nur bedingt bestätigen. Verapamil blockierte in niedrigen Konzentrationen den schnellen Calciumeinstrom nicht. Im Gegenteil, es verstärkte die Spikeamplitude und verkürzte die Plateaubildung; nach einigen Minuten und bei einer weiteren Erhöhung der Verapamilkonzentration wurden die Aktionspotentiale kleiner, und die phasischen Kontraktionen gingen zurück.

ERNST (52) und KÖLLING (89) beobachteten an der *V. portae*, daß Nifedipin in niedrigen Konzentrationen, ähnlich wie eine teilweiser Ca^{++} -Entzug, die Spikefrequenz, die Burstdauer und die Burstfrequenz erhöhte. In hohen Konzentrationen kam es zu einer rhythmisch modulierten Dauerspikeaktivität, bis die elektrische Aktivität ab einer gewissen Konzentration sistierte und das Präparat völlig relaxiert war. Nach FLECKENSTEIN (55) soll dies in erster Linie an der elektromechanischen Entkopplung durch Nifedipin und erst in zweiter Linie an der Hemmung der Calcium-abhängigen Membranerregung gelegen haben.

3.5. EINFLUß VON BARIUM, MANGAN UND MAGNESIUM

BURNSTOCK (31), HOLMAN (75) und BÜLBRING (23) wiesen bei niedrigen Bariumkonzentrationen an der *T. coli* einen Anstieg der AP-Frequenz nach. Höhere Konzentrationen verlängerten die AP-Dauer. BÜLBRING et al. (23) beobachteten, daß Mangan die Spontanaktivität der *T. coli* viel schneller hemmt. Barium schien Calcium zum Teil ersetzen zu können. So konnte UVELIUS (141) an der *V. portae* selbst in Calcium-freier Inkubationslösung die elektrische Spontanaktivität alleine durch die Zugabe von Barium aufrechterhalten. Mangan hingegen unterdrückte die AP-Bildung. Wahrscheinlich hemmt es die Calcium-Aktivität kompetitiv (NOMOMURA, 112).

KURIYAMA (93) konnte am Meerschweinchenureter durch die Zugabe von Barium die Plateauphase verlängern, während Mangan die Membranaktivität blockierte. CREED (42) beobachtete an der Blase eine Verlängerung der Plateaudauer und eine Abnahme der Spike-

amplitude durch Mangan. Diese Plateauverlängerung schien ihm auch mit einer erhöhten Na^+ -Leitfähigkeit in Zusammenhang zu stehen, da sie in Na^+ -freier Lösung unterdrückt wurde.

SHUBA (128) untersuchte mit der Saccharose-Trennwand und mit der Voltage-Clamp-Technik speziell den Einfluß von Mangan auf die Uretermuskulatur. Dabei setzte Mangan die Erregbarkeit der Muskelzellen herab, unterdrückte die Spikes des Aktionspotentials und verstärkte die Plateauphase. Mangan schien auch den Kaliumausstrom zu hemmen, was die starke Verlängerung der Plateauphase erklärt. Der Kaliumausstrom wird dabei offenbar früher gehemmt als die von Calcium getragene Anfangsphase der Depolarisation. GORMANNS (67) und SIGURDSSON (130) beschrieben den Einfluß von Magnesium auf die V.portae des Meerschweinchens und der Ratte. Eine Erniedrigung der Magnesiumkonzentration in der Krebs-Ringer-Lösung erhöhte die Spikefrequenz und Amplitude. Der basale organeigene Rhythmus wurde verstärkt und das Ruhemembranpotential depolarisiert. Diese Effekte konnten aber durch die Zugabe von Calcium aufgehoben werden. SOMERS (132) wies an den Inselzellen des perfundierten Pankreas eine kompetitive Hemmung zwischen Calcium, Barium und Magnesium nach.

3.6. WIRKUNG VON PROCAIN

Der genaue Wirkungsmechanismus von Procain an glatter Muskulatur wurde vor allem an Blutgefäßen (ERNST, 52; ZINNHÖBLER, 145) und an der Blase (KURIHARA, 91) studiert. BOLTON (16) beobachtete folgende Wirkungen von Procain: es stimuliert die Frequenz der Aktionspotentiale der glatten Muskulatur in niedrigen Dosen und relaxiert bzw. hemmt die Spontanaktivität in höheren Konzentrationen; die Amplitude wird höher und die AP-Dauer länger, da Procain vermutlich die Kaliumkanäle blockiert, die während des Aktionspotentials und die während des Ruhemembranpotentials aktiviert sind; dies führt auch zu einer Membrandepolarisation. Die Wirkung von Procain scheint also sehr stark der von Tetraäthylammonium zu ähneln.

Die bei höheren Procaindosen beobachtete relaxierende Wirkung von Procain konnte durch die Zugabe von Calcium aufgehoben werden. Der stimulierende Effekt bei niedrigeren Dosen wurde durch die Zugabe von Mangan, Cobalt oder Ca^{++} -Antagonisten gehemmt. Procain scheint also auch den schnellen Ca^{++} -Einstrom

und die mikrosomale Anhäufung von Calcium zu hemmen.

FEINSTEIN u. PAIMRE (53) wiesen auch eine "Atropin-ähnliche" Wirkung von Procain nach. Von Calcium und von Acetylcholin ausgelöste Kontraktionen konnten durch Procain inhibiert werden. Anscheinend übt Procain einen blockierenden Einfluß auf die "receptor-operated" Ca^{++} -Kanäle (ROC) aus, die durch Acetylcholin stimuliert werden.

3.7. EINFLUß VON NATRIUM

Als REIMNITZ (116) den Natrium-Gradienten des Nierenbeckens untersuchte, entdeckte er, daß die Na^+ -Konzentration parallel mit der Frequenz von proximal nach distal abnimmt.

HOLMAN (75) studierte den Einfluß einer erniedrigten Na^+ -Konzentration auf die elektrische Spontanaktivität der T. coli des Meerschweinchens. Natrium wurde durch Cholinchlorid ersetzt. Dabei nahmen die AP-Amplitude und die maximale Anstiegsgeschwindigkeit ab, während die AP-Dauer verlängert wurde. Bei sehr niedrigen Natriumkonzentrationen war die spontane elektrische Aktivität völlig gehemmt.

Untersuchungen von BRADING et al. (19), bei denen Natrium durch Saccharose ersetzt wurde, zeigten eine starke Hyperpolarisation der Zellmembran und wie oben eine Hemmung der Spontanaktivität. Die Unterdrückung der Spontanaktivität durch Natrium beruht wahrscheinlich auf der durch den Na^+ -Entzug verursachten Membranhyperpolarisation; Natrium trägt nicht nur durch seinen Konzentrationsgradienten und die Na^+ -Permeabilität der Zellmembran, sondern auch aktiv durch eine elektrogene Na^+ -Pumpe zur Aufrechterhaltung des Membranpotentials bei (CASTEELS, 35).

Diese Natrium-Effekte waren jedoch von den Substanzen, die Natrium isoosmotisch ersetzten, abhängig. Wurde NaCl durch Cholinchlorid oder Trischlorid ersetzt, so blieb die Spontanaktivität bei verminderter Na^+ -Konzentration länger erhalten als beim Austausch von NaCl gegen Saccharose (BURNSTOCK, 32; BÜLBRING, 27; KURIYAMA, 94).

KURIYAMA (94) untersuchte mit der Saccharose-Trennwand Technik die elektrische Spontanaktivität des Ureters in Natrium-freier Lösung (Natrium wurde durch Saccharose ersetzt). Dabei beobachtete er wie SHUBA (128) eine Verkürzung der Plateauphase und eine Verstärkung der Spikekomponenten.

KOBAYASHI (84, 85) führte die gleichen Versuche mit der Mikroelektrodenteknik am Katzenureter durch. Er konnte die Befunde von KURIYAMA (94) und SHUBA (128) nicht bestätigen. Er beobachtete eine Verlängerung des Aktionspotentials bei der Zugabe von Saccharose und Cholinchlorid und eine Abnahme bei der Zugabe von Trischlorid; die Reduzierung von Natrium verminderte die Anstiegsgeschwindigkeit und verkleinerte die Amplitude; in den meisten Fällen sistierte die elektrische Spontanaktivität in Natrium-freier Lösung.

Die Voltage-Clamp Technik erlaubte es SHUBA (128) den Na^+ -Fluß durch die Zellmembran zu bestimmen. Da er in Natrium-freier Lösung eine Plateauverkürzung beobachten konnte, schloß er, daß Natrium für diese Phase des Aktionspotentials verantwortlich ist ("slow outward current of sodium"). Shuba versuchte ferner den schnellen anfänglichen Ca^{++} -Einstrom durch Mangan und die Plateauphase durch eine Natrium-freie Inkubationslösung zu blockieren. Dies gelang ihm aber nicht; vielmehr kam es zur Bildung von "slow action" Potentialen mit einer verstärkten Amplitude und zur Verlängerung der AP-Dauer. Diese AP-Bildung wird nach SHUBA (128) von Ca^{++} -Ionen getragen. Sie erlischt, sobald auch Calcium aus der Lösung entfernt wird. Es konnte jedoch noch nicht geklärt werden, ob das zur Spontanaktivität unerläßliche Calcium trotz der Anwesenheit von Mangan durch die schnellen Ca^{++} -Kanäle oder durch die langsamen Na^+ -Kanäle geschleust wird. Diese langsamen Na^+ -Kanäle konnten nicht durch Mangan beeinflusst werden.

3.8. WIRKUNG VON ACETYLCHOLIN UND ATROPIN

BÜLBRING u. BURNSTOCK (26) beobachteten an der T. coli des Meerschweinchens bei der Zugabe von Acetylcholin eine Verstärkung der Kontraktion. Dabei wurde das Membranpotential depolarisiert, die Spikeentladung wurde erhöht, in einigen Fällen sogar erst ausgelöst. Die Depolarisation scheint auf einer erhöhten Na^+ -Leitfähigkeit der Zellmembran zu beruhen (BOLTON, 17; BÜLBRING u. KURIYAMA, 27). In einer Kalium-reichen und Calcium-freien Inkubationslösung, wo die Spontanaktivität der T. coli erlischt, konnten durch die Zugabe einer hohen Konzentration von Acetylcholin (10^{-6}mol/l) Kontraktionen ausgelöst werden. Diese Kontraktionen beruhen wahrscheinlich auf

einer Mobilisierung und auf einer Diffusion von Calciumionen aus intrazellulären Speichern in das Myoplasma. Die Menge an Calciumionen, die in diesen Speichern vorhanden ist, reicht zu einer nahezu maximalen Kontraktion aus (CASTEELS, 38).

ANCILL et al. (4) untersuchten am Rattenureter die Wirkung von Acetylcholin und Atropin auf die Peristaltik. Dabei zeigten weder Acetylcholin (Ach) noch Atropin einen Einfluß auf die Ureterdynamik.

DEL TACCA (47) wies am isolierten Pyeloureter vom Menschen und von Versuchstieren unter Ruhebedingungen eine spontane Freisetzung von Acetylcholin nach. Eine elektrische Stimulierung der Präparate mit 10 Hz erhöhte die Ach-Freisetzung, die beim Menschen erheblich höher war als beim Meerschweinchen. Catecholamine scheinen im Nierenbecken und am Ureter präsynaptische, inhibitorische α_2 -Rezeptoren an cholinergen Nervenendigungen zu stimulieren. So konnte die Ach-Freisetzung durch Noradrenalin vermindert werden. In weiteren Versuchen beobachteten DEL TACCA et al. (48) am Nierenbecken des Kaninchens, daß Ach in den proximalen Bereichen keine Wirkung zeigte, während es in mittleren und distalen Anteilen des Pyelons die Kontraktionsfrequenz erhöhte. Eine Vorbehandlung mit Reserpin (Entleerung der Catecholaminspeicher) verursachte im proximalen Teil des Nierenbeckens eine Abnahme der Spontankontraktionen. Atropin antagonisierte den Effekt von Ach im mittleren und distalen Bereich, was den Schluß zuläßt, daß die Wirkung von Acetylcholin durch m-Rezeptoren vermittelt wird (LONGRIGG, 98).

Den cholinergen Nerven scheint im Nierenbecken des Menschen und des Kaninchens keine funktionelle Bedeutung zuzukommen (DEL TACCA, 46).

3.9. WIRKUNG VON SYMPATHOMIMETIKA UND SYMPATHOLYTIKA

BÜLBRING und TOMITA (28) beobachteten an der T. coli bei der Applikation von Adrenalin eine Hyperpolarisation des Membranpotentials und eine Unterdrückung der Spikegeneration. Ab einer Konzentration von 10^{-6} mol/l war die elektrische Spontanaktivität völlig gehemmt und das Präparat relaxiert. KÖLLING (89) führte das auf eine α -Rezeptorenwirkung zurück, während SCHEID (123) die β -Rezeptoren dafür verantwortlich machte. β -Mimetika scheinen die vom cyclischen AMP abhängige

Proteinphosphorylierung und den Na^+/K^+ -Transport zu stimulieren. Die Erhöhung des Na^+/K^+ -Transportes ist wahrscheinlich für die Relaxation essentiell, da dadurch auch der $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ -Austausch gesteigert wird und sich folglich der Ca^{++} -Ausstrom aus der Zelle erhöht.

Im Gegensatz zur *T. coli* verursachten Adrenalin und Phenylephrin über die Stimulierung von α -Rezeptoren einen Anstieg der Kontraktionskraft des isolierten menschlichen Nierenbeckens (LONGRIGG, 98). Auch DEL TACCA et al. (48) berichteten über eine Erhöhung der Kontraktionsfrequenz des Nierenbeckens des Kaninchens durch Adrenalin und α -Mimetika. Mit Phentolamin konnte die Wirkung der Sympathomimetika aufgehoben werden.

HANNAPPEL (72) beobachtete bei einer Adrenalinzugabe von 10^{-6} mol/l einen Anstieg der Grundoszillationen des Nierenbeckens und eine Verstärkung der mechanischen Spontanaktivität. Er untersuchte ferner den Einfluß von Catecholaminen auf die Ureterperistaltik verschiedener Tierarten. Dabei wies er im Nierenbecken positive autochtone und chronotrope und am Ureter positive bathmotrope und dromotrope Effekte nach, die wahrscheinlich über α -Rezeptoren vermittelt werden. β -Rezeptoren, die vor allem im distalen Teil des Ureters vorkommen, scheinen die Spontanaktivität des Harnleiters zu hemmen (TINDALL, 137).

In Versuchen von CASTELLS (34) und SHUBA (125) war die elektrophysiologische Wirkung von Adrenalin geringer als die von Noradrenalin. Beide erhöhten die Zahl und die Frequenz der superponierten Spikes und verlängerten die Plateauphase des Aktionspotentials (BOLTON, 17). Der α -Blocker Phentolamin verdreifachte bei einer Konzentration von 10^{-6} mol/l die Plateaudauer, während der β -Blocker Propranolol sie nur unwesentlich verlängerte. Propranolol dämpfte die superponierten Spikes. SHUBA (125) konnte keinen Einfluß auf die superponierten Spikes beobachten.

MITOLO-CHIEPPA et al. (105) schlagen folgende Hypothese für die Aktivierung adrenerger Rezeptoren vor: Es gibt Noradrenalin-spezifische Rezeptoren und unspezifische Rezeptoren; die einen können nur durch Noradrenalin aktiviert werden, während die anderen durch eine ganze Reihe von Sympathomimetika stimuliert werden. Beide Rezeptorgruppen werden durch α -Blocker gehemmt.

SHUBA (128) wies nach, daß die Wirkung von Catecholaminen auf

einer Aktivierung der langsamen potentialabhängigen Na^+ -Kanäle beruht, die für die Ausbildung des Plateaus verantwortlich sind. Die Zugabe von Mangan hemmte die Effekte von Catecholaminen. Wahrscheinlich behindert Mangan das Zusammenspiel zwischen Transmittern und Rezeptoren.

PHILIPP (114) beobachtete an Patienten nach der Gabe des α -Mimetikums Midodrin (Gutron[®]) und nach der Gabe des β -Mimetikums Hexoprenalin (Ipralol[®]) eine gesteigerte Harnleiterperistaltik.

III. M E T H O D I K

Die vorliegenden Versuchsreihen wurden am isolierten Pylon (Pelvis renalis nach N.A.V. 1983) und Ureter des Meerschweinchens und des Menschen (OP-Material) durchgeführt. Durch die Verbesserung der Methodik zur intrazellulären Ableitung (GOLENHOFEN, 62; ABE, 1; KOBAYASHI, 85), wurde es erstmals möglich, über längere Zeit Ableitungen aus dem Ureter zu registrieren. Nachfolgend werden die Präparation und Inkubation des Pyeloureters (Mensch, Meerschwein), die Meßanordnungen zur Registrierung der mechanischen und elektrischen Aktivität und die bei den Versuchen eingesetzten Substanzen besprochen.

Meerschweinchen beiderlei Geschlechts mit einem Körpergewicht zwischen 300-600g wurden in einer CO₂-Kammer getötet, um die für die Versuche erforderlichen Organe zu entnehmen.

Die Humanpräparate wurden in steriler Mc-Ewen-Lösung direkt aus dem Operationssaal in das Labor überführt. Der Transport erfolgte unter Kühlschranktemperaturen.

1. NIERENBECKEN UND HARNLEITER VOM MEERSCHWEINCHEN

1.1. PRÄPARATION ZUR INTRAZELLULÄREN ABLEITUNG

Das Abdomen des Meerschweinchens wurde in der Medianen eröffnet und zunächst der linke Ureter aufgesucht. Dieser wurde von der Junctio ureterovesicalis bis zum Übergang zum Nierenbecken unter ständiger Umspülung mit 37°C warmer McEwen-Lösung sorgfältig von Peritoneum und Fettgewebe befreit. Danach wurde die Nierenkapsel eröffnet, die Niere aus ihrem Bett herausgelöst und der Ureter an der Junctio ureterovesicalis abgetrennt. Jetzt konnte man die Niere mit dem Ureter aus der Bauchhöhle entnehmen und auf eine Präparierschale legen. Dabei war zu beachten, daß das Präparat auf keinen Fall mit dem Präparierbesteck gequetscht oder zu sehr gedehnt wurde. Ferner mußte das Präparat ständig mit 37°C warmer McEwen-Lösung betropft werden, um es vor Austrocknung und Abkühlung zu schützen.

Die Niere wurde in der Medianen in Richtung zum Nierenbecken

gespalten und die beiden Nierenhälften auseinandergelegt. Das gab den Blick auf das unbeschädigte Nierenbecken, die Einmündung zum Ureter und die Nierenpapillen frei, die tief in das Nierenparenchym ziehen und fest mit ihm verwachsen sind. Die Nierenpapillen mußten mit einer Präparierschere herausgeschnitten werden, bevor man das Nierenbecken in toto aus der Niere herauslösen konnte. Damit lag der Pyeloureter isoliert in der Präparierschale.

Jetzt wurde das distale Ende des Ureters mit einem Seidenfaden (1 metric) umschlungen. Dieser wurde festgezogen und ein Fadenende durch das Loch im Präparatehalter geführt, um dann mit dem anderen Fadenende verknüpft zu werden. Somit war das distale Ende des Ureters fixiert.

Als Präparatehalter dienten zwei Dentalwachsplättchen (2,5cm * 1cm * 0,2cm), die mit zwei Seidenfäden (3.5 metric) zusammengebunden waren. Diese Seidenfäden verhinderten ein zu starkes Anhaften des Ureters am Präparatehalter und garantierten damit eine gleichmäßige allseitige Umspülung im Organbad.



Abb. 2: Präparatehalter

Nun wurde mit einer Wundnadel (343/3 von Acufirm) ein langer Seidenfaden durch das Nierenbecken geführt (1 metric), der lose liegen blieb. Zur Fixierung des Ureters auf dem Präparatehalter wurden U-förmig vorgebogene kleine Platin-Drähte über den Ureter gesteckt.

Der Präparatehalter wurde schließlich mit dem Pyeloureter in ein nach oben offenes Organbad aus Plexiglas übergeführt und dort festgeklebt. Das freie Ende des Pyeloureters mit dem dort angebrachten, losen Seidenfaden wurde an einen isometrischen Kraftnehmer geknotet.

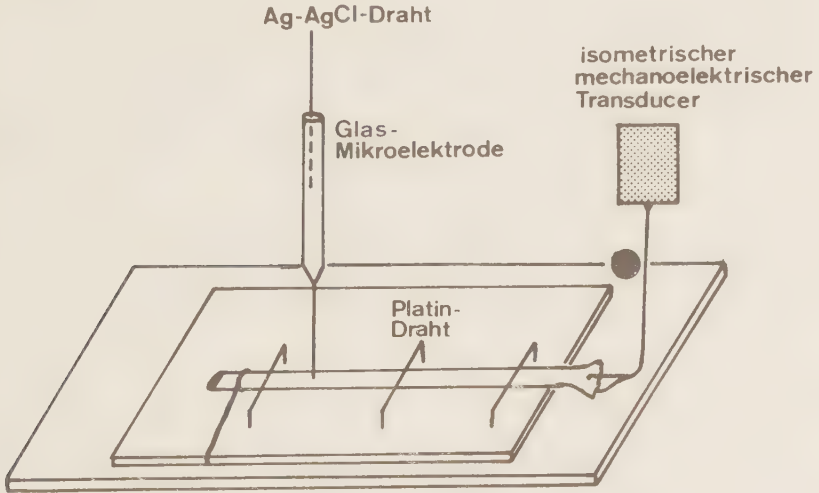


Abb. 3: Fixierung des präparierten Pyeloureters zwischen Präparatehalter und Transducer; die Ag/AgCl-Elektrode verhinderte eine Abgabe von Silberionen an die Lösung und eine Wasserstoffbildung in der Glaselektrode.

1.2 PRÄPARATION ZUR ISOTONISCHEN MESSUNG DER MECHANISCHEN AKTIVITÄT:

Die Isolierung des Pyeloureters aus dem Meerschweinchen erfolgte nach der oben beschriebenen Methode. In der Präparierschale wurde aus dem proximalen Teil des isolierten Ureters ein ca 1 cm langes Stück herausgeschnitten und, wie in Abbildung 6 dargestellt, in der Meßapparatur fixiert.

2. VORBEREITUNG VON HUMANPRÄPARATEN

Ureteren und Nierenbecken menschlichen Ursprungs wurden auf ihre isometrische Spontanaktivität untersucht.

Nach dem Transport in steriler McEwen-Lösung unter Kühl-schranktemperaturen, wurden die Organstückchen unter ständiger Umspülung mit 37°C warmer McEwen-Lösung von anhängendem Binde-gewebe befreit ohne die glattmuskulären Schichten zu verletzen. Makroskopisch pathologisch veränderte Humanpräparate wurden verworfen. Die Ureteren wurden in Längsrichtung eröffnet, und aus den so gewonnen Organpräparaten wurden ca. 1 cm lange und 0,5 cm breite Organstückchen entnommen.

Um Ansätze zur Ableitung der elektrischen Spontanaktivität aus Humanpräparaten zu entwickeln, mußte die Präparationstechnik verfeinert werden. Dies wird im Kapitel "Ergebnisse" (siehe S. 117) näher beschrieben.

3. LÖSUNGEN

Die nachfolgend aufgeführten Lösungen wurden am jeweiligen Ver-suchstag aus Stammlösungen frisch zubereitet. Als Inkubationslö-sung wurde wegen ihrer Magnesium-Freiheit eine McEwen-Lösung gewählt. Im Gegensatz zur Krebs-Ringer-Lösung ermöglichte sie eine gute Spontanaktivität der Organe des Harntraktes und eine gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse. Die McEwen-Lösung hatte folgende Zusammensetzung:

NaCl	130,0 mmol/l	NaHCO ₃	25,0 mmol/l
KCl	5.6 mmol/l	Glukose	10,1 mmol/l
CaCl ₂	2,1 mmol/l	Saccharose	13,2 mmol/l
NaH ₂ PO ₄	1,2 mmol/l		

Der pH-Wert der Lösung betrug 7,6, die Osmolarität 330 mosmol/l. Die Kalium- und die Calcium-freien Lösungen hatten im übrigen die Zusammensetzung der Standard-McEwen-Lösung.

Bei der Erhöhung der Kalium- bzw. der Calcium-Konzentration wurde die Standard-McEwen-Lösung entsprechend ergänzt.

Ebenso wurde bei der Zugabe von Magnesium, Mangan und Barium

verfahren.

Bei der Reduktion des NaCl-Gehaltes wurde zur Erhaltung der Osmolarität von 330 mosmol/l der McEwen-Lösung Saccharose oder Lithiumchlorid zugegeben. Die richtige Osmolarität der Inkubationslösung wurde jeweils mit einem Osmometer (Fa. Knauer) überprüft.

A) Ersatz von Natriumchlorid durch Saccharose:

Lösung 50% Na	: NaCl	78,1 mmol/l
	KCl	5,6 mmol/l
	CaCl ₂	2,1 mmol/l
	NaH ₂ PO ₄	1,2 mmol/l
	NaHCO ₃	25,0 mmol/l
	Dextrose	10,1 mmol/l
	Saccharose	136,0 mmol/l
Lösung 16% Na	: KCl	5,6 mmol/l
	CaCl ₂	2,1 mmol/l
	NaH ₂ PO ₄	1,2 mmol/l
	NaHCO ₃	25,0 mmol/l
	Dextrose	10,1 mmol/l
	Saccharose	242,0 mmol/l

B) Ersatz von Natriumchlorid durch Lithiumchlorid:

Lösung 50% Na	: NaCl	78,1 mmol/l
	KCl	5,6 mmol/l
	CaCl ₂	2,1 mmol/l
	LiCl	78,1 mmol/l
	NaH ₂ PO ₄	1,2 mmol/l
	NaHCO ₃	25,0 mmol/l
	Dextrose	10,1 mmol/l
	Saccharose	13,2 mmol/l
Lösung 16% Na	: KCl	5,6 mmol/l
	CaCl ₂	2,1 mmol/l
	LiCl	130,0 mmol/l
	NaH ₂ PO ₄	1,2 mmol/l
	NaHCO ₃	25,0 mmol/l
	Dextrose	10,1 mmol/l
	Saccharose	13,2 mmol/l

4. INKUBATION DER PRÄPARATE

Als Organbad diente ein doppelwandiger Plexiglasbehälter, dessen äußerer Mantel mit einer Umwälzpumpe in Verbindung stand. Die Inkubationstemperatur von $37,5^{\circ}\text{C}$, die in Vorversuchen als geeignet ermittelt wurde, konnten mittels eines Thermostaten konstant gehalten werden.

Das Organbad hatte ein Volumen von 5 ml. Mit einer Saug-Druckpumpe wurde die Inkubationslösung kontinuierlich ausgetauscht. Der pH-Wert von 7,6 wurde fortlaufend überprüft.

Die Inkubationslösung wurde ständig mit Carbogen (95% O_2 + 5% CO_2) durchperlt.

Die passive Vordehnung der im Organbad fixierten Präparate betrug $5 \cdot 10^{-3} \text{ N}$.

5. ZUR INTRAZELLULÄREN ERFASSUNG DER ELEKTRISCHEN AKTIVITÄT

5.1. MIKROELEKTRODEN

Die Mikroelektroden wurden mit einem automatischen Ziehgerät aus Pyrex-Glaskapillaren mit einem Außendurchmesser von 1,0 mm und einem Innendurchmesser von 0,5 mm (Omega DOT Tubing Cat# 30-30-1) gezogen. Die Spitzenlänge und der Durchmesser der Elektroden konnten durch Veränderung der Heizspannung und Zugstärke beliebig verändert werden. Um die Zellmembran nicht zu zerstören und transmembrane Leckströme zu verhindern mußte der Spitzendurchmesser möglichst klein gehalten werden. Verwendet wurden Elektroden mit einem Durchmesser von 0,2-0,5 μm , die mit einer 3-molaren KCl-Lösung gefüllt waren (ZETTLER, 144). Die Elastizität der Glaselektroden spitzen ließ bei Kontraktionen der Zellen die Elektrode nicht so leicht dislozieren. Der Innenwiderstand der Elektroden sollte bei 25-60 M Ω liegen. Alle Elektroden, die diese Bedingung nicht erfüllten, wurden verworfen, um damit die gerade bei hochohmigen Elektroden vorliegende Gefahr einer Fehlmessung auszuschließen.

5.2. MEBANORDNUNG

Die Messung der elektrischen Spontanaktivität erfolgte zwischen einer indifferenten Bezugs elektrode im Organbad und der in der Muskelzelle befindlichen Mikroelektrode. Die elektrische Spontanaktivität wurde nur im proximalen Drittel des Pyeloureters abgeleitet. Das Ruhe- und Aktionspotential wurde über einen hochohmigen Kathodenfolger mit Kapazitätsausgleich (Impedanzwandler) auf einem Zweikanaloszillographen (Tektronix Typ 565 Dual-Beam) sichtbar gemacht. Dem Oszillographen waren zur Aufzeichnung der Ableitungen ein Direktschreiber (Schwarzer, Typ Varioscript PEE4 oder Schwarzer-Picker US 136) und ein Magnettonbandgerät (Tandberg TIR 115) nachgeschaltet. Durch ein zwischen Verstärker und Oszillograph parallel geschaltetes, selbst entworfenes RC-Glied mit differenzierender Wirkung wurde das Signal "on line" differenziert und registriert. Damit konnte auch eine Aussage über die Funktion $f=dU/dt$ getroffen werden. Die entscheidenden Faktoren beim Aufbau des RC-Gliedes waren die Zeitkonstante τ und die Impulsbreite t . Die Kapazität C des Kondensators wurde so gewählt, daß er die Gesamtladung aufzuneh-

men konnte und bis zum Eintreffen des nächsten Signals wieder entladen war.

Differenzierendes RC-Glied

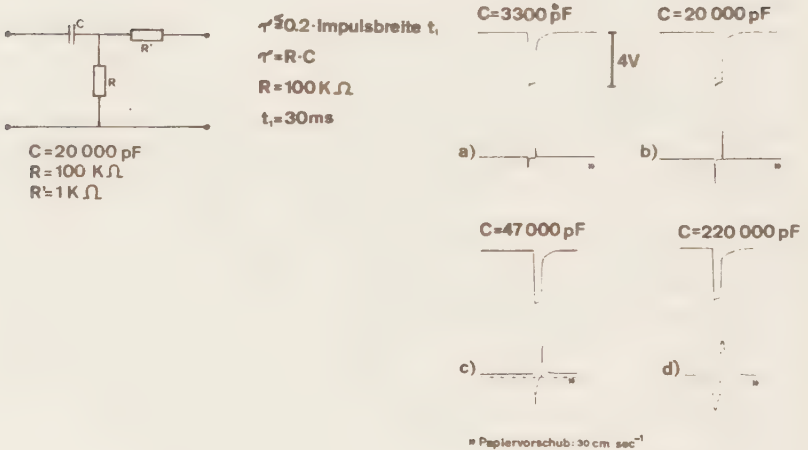


Abb.3: Schaltplan des RC-Gliedes und die voneinander abhängigen Variablen C und R ;
Die Registrierungen a)-b) zeigen $f=dU/dt$ eines Rechteckimpulses (1Hz; 30ms; 4V):

- a) zu kleine Kapazität C : Die Peaks sind zu klein; der Kondensator ist überladen.
- b) optimale Kapazität C : Die Peaks sind am höchsten und gut voneinander getrennt; während der Plateauphase des Rechteckimpulses ist $f=dU/dt$ gleich Null.
- c) und d) zu große Kapazität C : Die Peaks sind hoch. Der Kondensator entlädt sich jedoch zu langsam. Beim Eintreffen eines späteren Impulses ist noch Restladung (gestrichelte Linie) vorhanden.

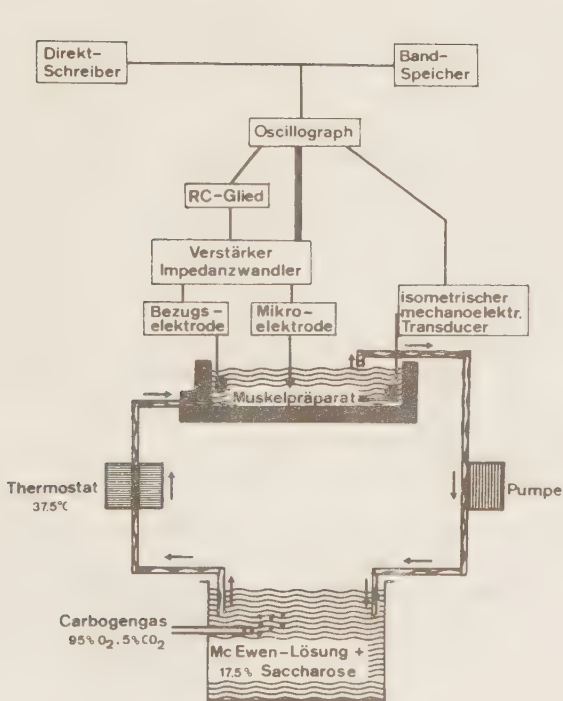


Abb. 5: Versuchsaufbau zur intrazellulären Potentialableitung mit Mikroelektroden

Die mechanische Spontanaktivität des Präparates wurde mit Hilfe eines induktiven Kraftnehmers (Statham UR 5) registriert und mit einem Direktschreiber synchron mit der elektrischen Aktivität aufgezeichnet.

5.3 VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Nach Beendigung der Vorarbeiten wurde das Präparat auf seine ursprüngliche Länge mit einer Kraft von $5 \cdot 10^{-3}$ N vorgedehnt. Die Versuche wurden erst nach einer Stabilisierung der mechanischen Aktivität (im Mittel nach 45 min) begonnen. Die Versuchsdauer betrug 4-7 Stunden.

Die zu starke mechanische Aktivität des Pyeloureters macht es unmöglich, die elektrische und mechanische Aktivität synchron zu registrieren. Deshalb wurde durch Zugabe von Saccharose die elektromechanische Kopplung unterdrückt und das Präparat auf diese Weise ruhiggestellt. In einigen Fällen konnte in der Übergangsphase mit verminderter mechanischer Aktivität die elektrische Spontanaktivität synchron zur mechanischen Spontanaktivität registriert werden.

Nach der vollständigen Ruhigstellung des Organpräparates wurde die Elektroden Spitze mit Hilfe eines Mikromanipulators (Leitz, Wetzlar) unter Sichtkontrolle durch ein Stereomikroskop (Zeiss) an die gewünschte Stelle der Geweboberfläche gebracht und durch vorsichtiges Drehen an der Mikrometerschraube des Manipulators in das Präparat eingestochen. Eine plötzliche Potentialänderung zeigte das erfolgreiche Anstechen einer Zelle an.

6. ZUR ERFASSUNG DER MECHANISCHEN SPONTANAKTIVITÄT

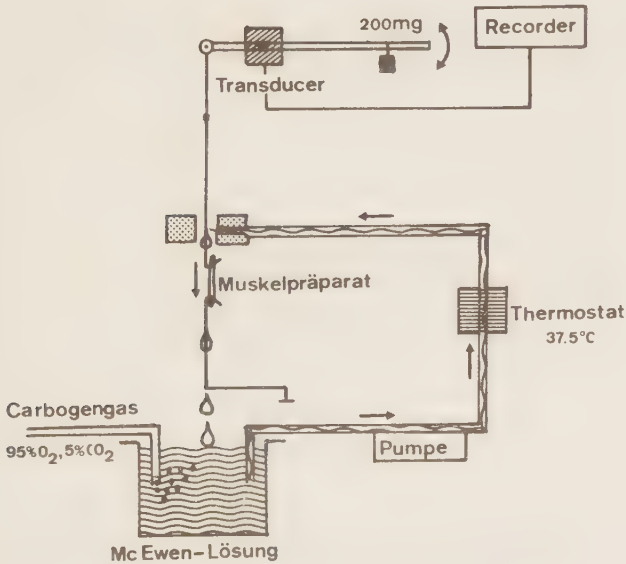


Abb. 6: Schema des Versuchsaufbaus zur Registrierung der mechanischen Spontanaktivität des Pyeloureters

Die Organstreifen wurden an ihren Enden mit Seidenfäden zwischen dem Aufnehmerhebel eines isotonischen Transducers und einem Glashaken gehängt und fixiert. Die Vorbelastung betrug 200 mg. Die Spontankontraktionen wurden isotonisch registriert und über einen Mehrkanalschreiber (Rikadenki, Mark II) aufgezeichnet.

7. VERWENDETE SUBSTANZEN

1. Procain (Novocain®)
Höchst AG-Frankfurt am Main
2. Tetraäthylammonium
Merck-Schuchardt
3. Nifedipin
Bayer-Leverkusen
4. Verapamil (Isoptin®)
Knoll AG-Ludwigshafen
5. Acetylcholin
Acetylcholinum ophthalmicum Dispersa®
Dispersa Baeschlin GmbH-Germering
6. Atropin
Atropinumsulfat krist.; Merck-Darmstadt
7. Adrenalin
L-Adren.-D-hydrogentartrat; Fluka AG,
8. L-Phenylephrin
Boehringer, Ingelheim am Rhein
9. Fenoterol
Boehringer, Ingelheim am Rhein
10. Propranolol-hydrochlor. (Dociton®)
Rhein-Pharma
11. Phentolamin (Regitin®)
CIBA-Geigy-Wehr/Baden

8. AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

8.1. KRITERIEN FÜR EINE ERFOLGREICHE ABLEITUNG

Um nur die Ableitungen zur Auswertung heranzuziehen, bei denen es zu einer vollständigen Penetration der Zelle gekommen war, wurden folgende Kriterien für die erfolgreiche Messung von Zellmembranpotentialen festgelegt:

- ein plötzlicher Potentialsprung von mindestens -40 mV bei der Penetration.
- eine Stabilität des gemessenen Ruhemembranpotentials für mindestens 30 sec.
- das Auftreten von Aktionspotentialen mit Amplituden größer 40 mV.
- die Rückkehr zum Null-Potential bei Entfernung der Glaselektrode aus dem Zellinneren.

8.2. DEFINITION DER MEßPARAMETER

- Membranpotential (MP):

Das elektrische Potential des Zellinneren unterscheidet sich vom elektrischen Potential des Außenmediums.

Die Differenz

$$V_m = \phi_i - \phi_a$$

wird als Membranspannung oder Membranpotential bezeichnet.

Veränderungen des Membranpotentials:

- Hyperpolarisation: $\phi_i - \phi_a$ vergrößert sich.
- Hypopolarisation: $\phi_i - \phi_a$ verkleinert sich.

ϕ = elektrisches Potential

- Ruhemembranpotential (RMP):

Als Ruhemembranpotential spontan aktiver Muskelzellen wird das maximale Repolarisationspotential zwischen je zwei Aktionspotentialen bezeichnet. Um kurzfristige, unregelmäßige Schwankungen ausschließen zu können, muß das RMP über einen längeren Zeitraum bestimmt werden.

- Aktionspotential (AP) oder Spike:

Ein Aktionspotential ist eine rasche Veränderung des Membranpotentials von negativen auf positive Werte (Depolarisation) mit anschließender Repolarisation zur Ausgangsmembranspannung. Folgende Parameter werden ausgewertet:

- Amplitude: Abstand in mV zwischen dem Wert des RMP und dem Potentialwert der AP-Spitze.
 - Maximale Anstiegsgeschwindigkeit (v/sec): $dV/dt_{\max}$ wird durch ein RC-Glied ermittelt.
 - AP-Dauer : Dauer des Aktivitätsmusters (sec)
 - AP-Frequenz: Anzahl der Aktionspotentiale in einem bestimmten Zeitintervall (min^{-1}).
- Burst (Salven von Aktionspotentialen)
Bursts sind in Salven abgefeuerte Aktionspotentiale, denen sich keine oder eine verschieden lange Depolarisationsphase anschließt.

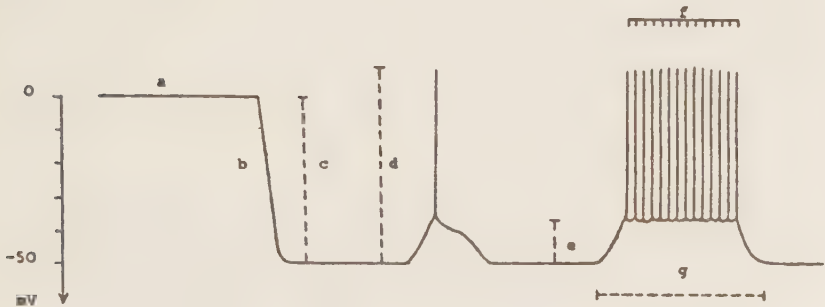
8.3. ISOTONISCHE UND ISOMETRISCHE MESSUNG

Die Messung der spontanen Kraftentwicklung erfolgte isometrisch und isotonisch nach der Äquilibration des Präparates, das auf seine in situ Länge vorgedehnt wurde. Es werden zwei verschiedene Arten der Kraftentwicklung unterschieden:

- phasische Kontraktionen: rasche Kraftentwicklung in kurzen Zeitabständen mit dazwischenliegenden Relaxationen.
- tonische Kontraktionen: Kraftentwicklung, der nicht unmittelbar eine Relaxation folgt; hier bleibt über eine gewisse Zeit ein erhöhter Spannungszustand erhalten.

8.4. AUSWERTUNG DER MEßERGEBNISSE

Die Parameter der elektrischen Aktivität wurden nach folgendem Schema ermittelt:



- a = Nullpotential
- b = Potentialsprung bei erfolgreicher Penetration der Zellmembran
- c = Ruhemembranpotential
- d = Amplitude des AP (Spike)
- e = Amplitude der slow wave (basaler organeigener Rhythmus)
- f = Anzahl der Spikes je Burst
- g = Burstdauer
- f/g = AP-Frequenz im Burst

Aus den erhaltenen Meßdaten wurde das arithmetische Mittel und die Standardabweichung errechnet. Die Anzahl der Meßdaten wird in Klammern angegeben.

8.5. DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE

Die Aufzeichnungen der intrazellulären Ableitungen folgen einem bestimmten Schema:

In der ersten Zeile ist die Originalregistrierung der elektrischen Aktivität dargestellt. Darunter ist, sofern vorhanden, die Aufzeichnung der Differentialfunktion $f=dU/dt$ abgebildet. Bei einigen Registrierungen zeigt die unterste Zeile die mechanische Aktivität des Präparates.

Die Registrierung erfolgte verschieden schnell, was durch das Symbol ■ für den langsamen und das Symbol ▲ für den schnellen Papiervorschub angezeigt wird.

Für die quantitative Auswertung wurde bewußt eine prozentuale Angabe gewählt, um trotz der relativ unhomogenen Ausgangssituation kleine Veränderungen der elektrischen Spontanaktivität möglichst genau festhalten und belegen zu können.

Die Darstellung der Ergebnisse ist in die Kapitel

- Vorversuche
 - Ausgangssituation
 - Einfluß von Ionen
 - Einfluß von Pharmaka
 - Zur intrazellulären Ableitung von Aktionspotentialen vom menschlichen Pyelon und Ureter
- gegliedert.

IV. E R G E B N I S S E

1. VORVERSUCHE

Die starke mechanische Spontanaktivität des Pyeloureters machte es unmöglich, die Mikroelektrode optimal in die Muskelzelle einzustechen und dort über längere Zeit zu halten. Deshalb mußte das Präparat durch eine schrittweise Zugabe von 17,5 % Saccharose ruhiggestellt werden. Dabei übte die Saccharosezugabe folgende Einflüsse auf die mechanische Spontanaktivität aus:

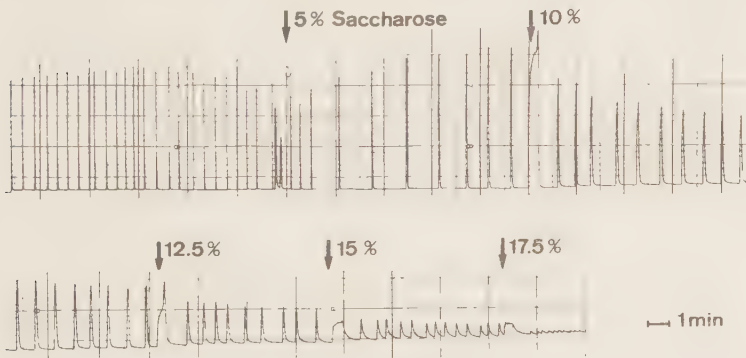


Abb. 7: Mechanische Spontanaktivität des Pyeloureters in McEwen-Lösung bei Zugabe von Saccharose.

Bei Zugabe von Saccharose nahm die Amplitude der mechanischen Kontraktionen kontinuierlich ab und die Dauer der Einzelkontraktionen zu. Die Frequenz fiel im Bereich von 10-15% Saccharose ab. Bei 17,5% Saccharose nahm sie bis zur völligen Ruhigstellung wieder zu. Zwischen den Einzelschritten der Konzentrationserhöhungen (2,5-5%) wurden Pausen von ca. 15 min eingehalten. In dieser Zeit konnte sich die mechanische Aktivität auf einem neuen Niveau stabilisieren. Bemerkenswert war, daß der Tonus des Präparates trotz Erhöhung der Osmolarität konstant blieb.

Auch die Temperatur der Inkubationslösung zeigte einen Einfluß auf die elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters. Ein Temperaturabfall hemmte die Bildung der elektrischen Spontanaktivität: Die Frequenz sank ab, burstartige Aktivitäten wurden in sehr langsame, spikeartige umgewandelt.

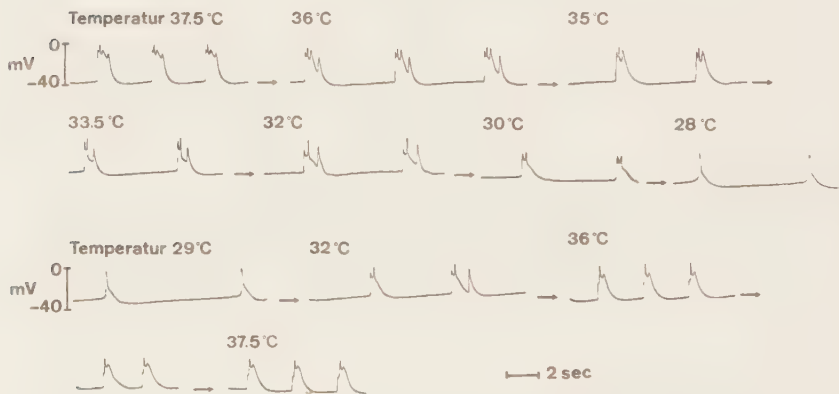


Abb. 8A: Elektrische Spontanaktivität bei sinkender Temperatur:

- Die elektrische Spontanaktivität wird zusehends gehemmt.
- Die burstartige Aktivität wandelt sich in eine langsame, spikeartige Aktivität um.
- Die Amplitude und die maximale Anstiegsgeschwindigkeit sinken.

Ein Temperaturanstieg ließ die Frequenz der elektrischen Spontanaktivität ansteigen. Es war eine burstartige Aktivität mit einer kurzen Plateauphase zu beobachten.

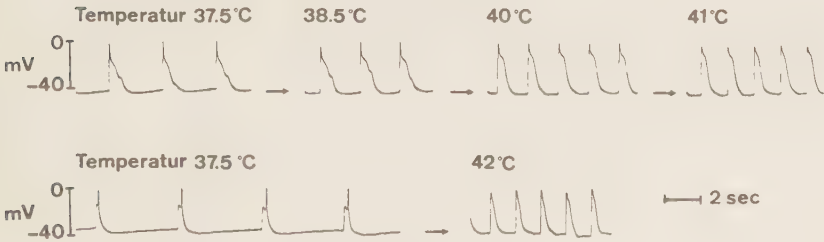


Abb. 7B: Elektrische Spontanaktivität bei steigenden Temperaturen:

- Die Frequenz steigt stark an.
- Es bildet sich eine burstartige Aktivität mit kurzer Plateauphase aus.

2. AUSGANGSSITUATION

2.1. QUALITATIVE AUSWERTUNG DER MECHANISCHEN SPONTANAKTIVITÄT DES ISOLIERTEN PYELOURETERS VON MENSCH UND MEERSCHWEIN

Zunächst wurden das Pyelon und der Ureter des Menschen auf ihre mechanische Spontanaktivität untersucht. Dabei waren verschiedene mechanische Kontraktionsmuster zu beobachten:

Pelvis renalis (Mensch)

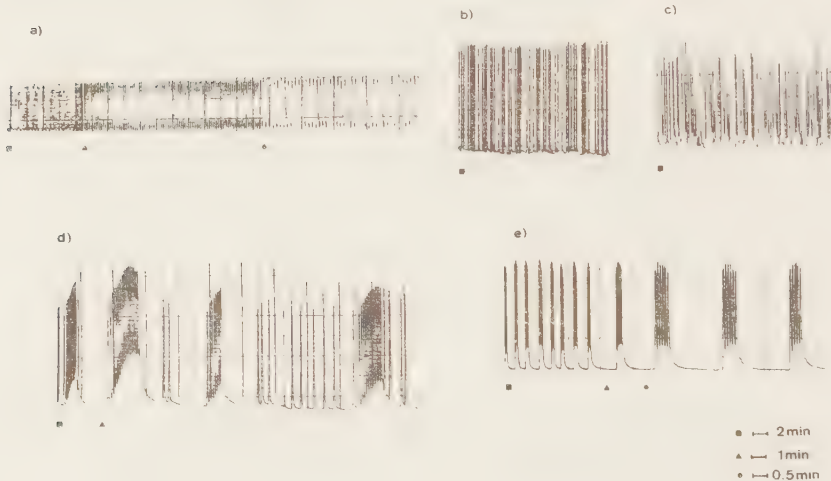


Abb. 9: Mechanische Spontanaktivität des menschlichen Pelvis renalis:

- a) gleichmäßige, gleichstarke Spontankontraktionen
- b) ungleichmäßige, gleichstarke Spontankontraktionen
- c) ungleichmäßige, ungleichstarke Spontankontraktionen
- d) burstartige, tonische Spontankontraktionen, unterbrochen von gleichmäßigen, gleichstarken Kontraktionen
- e) nur burstartige Kontraktionen

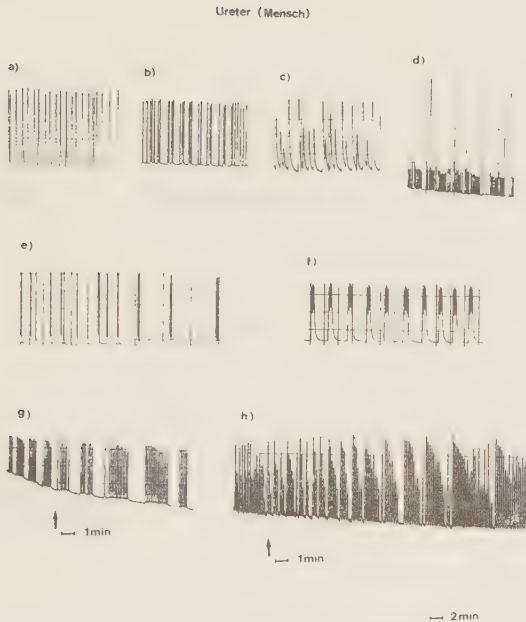


Abb. 10: Mechanische Spontanaktivität des menschlichen Ureters:

- a) gleichmäßige, gleichstarke Spontankontraktionen
- b) ungleichmäßige, gleichstarke Spontankontraktionen
- c)+ d) ungleichmäßige, ungleichstarke Spontankontraktionen
- e)+ f) burstartige, tonische Spontankontraktionen
- g) Gruppen von gleichmäßigen, gleichstarken Spontankontraktionen, die durch lange Phasen fehlender mechanischer Spontanaktivität voneinander getrennt werden.
- h) Gruppen von gleichmäßigen, ungleichstarken Spontankontraktionen, die durch Phasen fehlender Spontanaktivität voneinander getrennt werden.

Da es sehr schwierig ist, geeignete Humanpräparate zu erhalten und für die Versuche zu konservieren, wurde der Pyeloureter des Meerschweinchens als tierexperimentelles Modell für die Versuche herangezogen. Die Versuche mit isolierten Organen sollten mit dazu beitragen, die Ursache für die verschiedenartigen Kontraktionsmuster zu finden. Die Versuchsbedingungen entsprachen im Tierexperiment denen bei der Untersuchung von Humanpräparaten. Bei den Untersuchungen zeigte sich, daß auch beim Pelvis renalis und beim Ureter des Meerschweinchens ebenfalls unterschiedliche mechanische Kontraktionsmuster zu beobachten waren:

Pelvis renalis (Meerschwein)

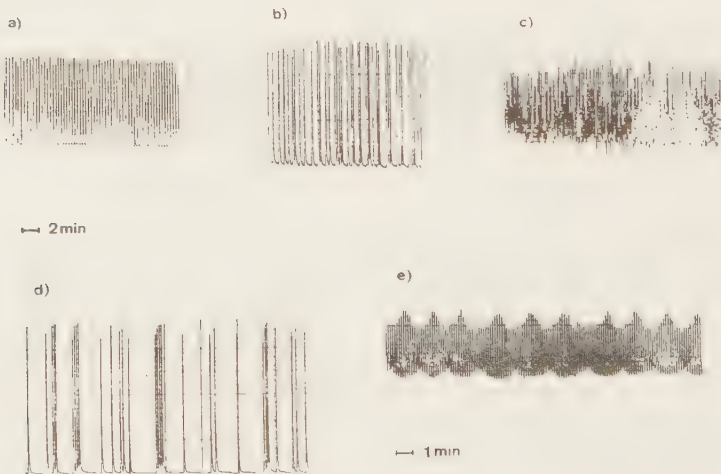


Abb. 11: Mechanische Spontanaktivität des Pelvis renalis des Meerschweinchens:

- a) gleichmäßige, gleichstarke Spontankontraktionen
- b) ungleichmäßige, gleichstarke Spontankontraktionen
- c) ungleichmäßige, ungleichstarke Spontankontraktionen mit Veränderung des Basaltonus
- d) burstartige, tonische Spontankontraktionen, unterbrochen von gleichmäßigen, gleichstarken, phasischen Kontraktionen
- e) gleichmäßige, rhythmisch ungleich starke Spontankontraktionen mit rhythmischer Veränderung des Basaltonus.

Ureter (Meerschwein)

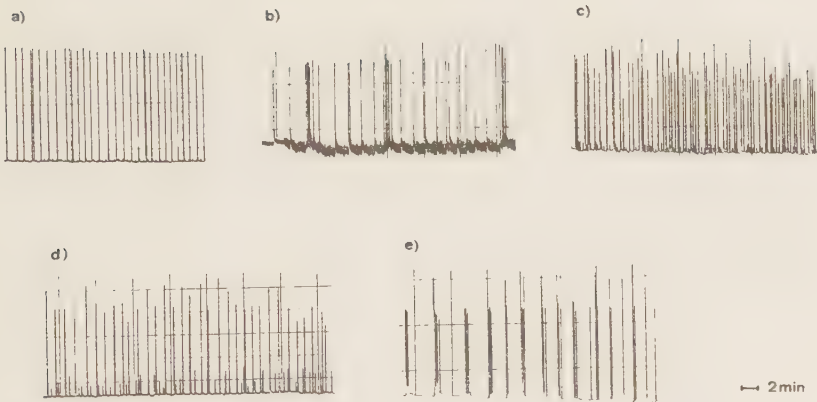


Abb. 12: Mechanische Spontanaktivität des Ureters des Meerschweinchens:

- a) gleichmäßige, gleichstarke Spontankontraktionen
- b)- d) ungleichmäßige, ungleichstarke Spontankontraktionen
- e) burstartige, tonische Spontankontraktionen, unterbrochen durch einzelne phasische Kontraktionen.

Die Untersuchungen über die mechanische Aktivität der Pyeloureterpräparate (Mensch, Meerschweinchen) wurden in Zusammenarbeit mit E. Neu durchgeführt.

Wie sie zeigen, sind die im Tierexperiment registrierten mechanischen Kontraktionsmuster mit denen vergleichbar, die bei Versuchen mit Humanpräparaten gewonnen wurden.

Um Antworten auf die Frage nach der Ursache solcher Vielfalt an mechanischen Kontraktionsmustern zu finden, mußte jedoch erst die elektrische Spontanaktivität der Glattmuskelzelle des Ureters registriert und studiert werden. Da intrazelluläre elektrophysiologische Versuche mit menschlichen Ureteren in der zugänglichen Literatur noch nicht beschrieben sind, wurde der Pyeloureter des Meerschweinchen als Modellpräparat für diese Experimente gewählt (GOLENHOFEN, 64, 65; KOBAYASHI, 84).

2.2. QUALITATIVE AUSWERTUNG DER ELEKTRISCHEN SPONTANAKTIVITÄT DES ISOLIERTEN PYELOURETERS DES MEERSCHWEINCHENS

Wie schon im Kapitel "Methodik" (siehe S. 34) beschrieben, machen es die starken Kontraktionen des Ureters unmöglich, die Glaselektrode über längere Zeit in einer Glattmuskelzelle zu positionieren. Dieses Problem wurde durch die langsame Zugabe von Saccharose zur Entkopplung der mechanischen von der elektrischen Aktivität gelöst. In der Übergangsphase mit stark reduzierter mechanischer Aktivität konnten in Einzelfällen die mechanische und die elektrische Spontanaktivität synchron registriert werden:

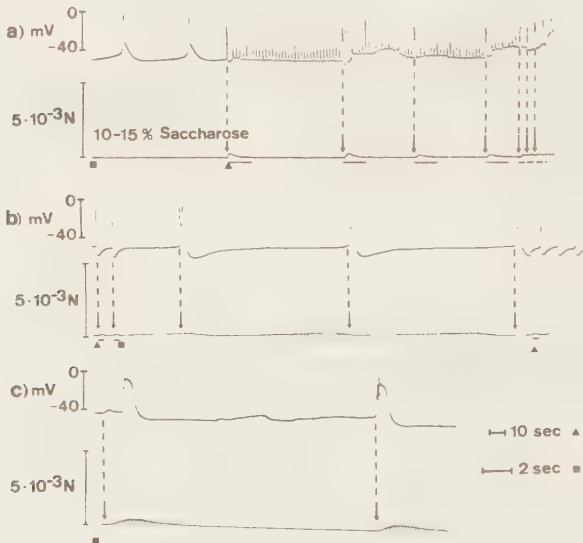


Abb. 13: Elektrische und reduzierte mechanische Spontanaktivität des Pyeloureters:

- die mechanische Kontraktion erfolgt synchron zu verschiedenen elektrischen Aktionsmustern:
 - b) zu doppelspikeartigen
 - a) + c) zu burstartigen
- a) Die Stärke der mechanischen Kontraktion scheint abhängig von den elektrischen Aktivitätsmustern zu sein, da die burstartige Aktivität stärkere Kontraktionen hervorruft als die spikeartige.

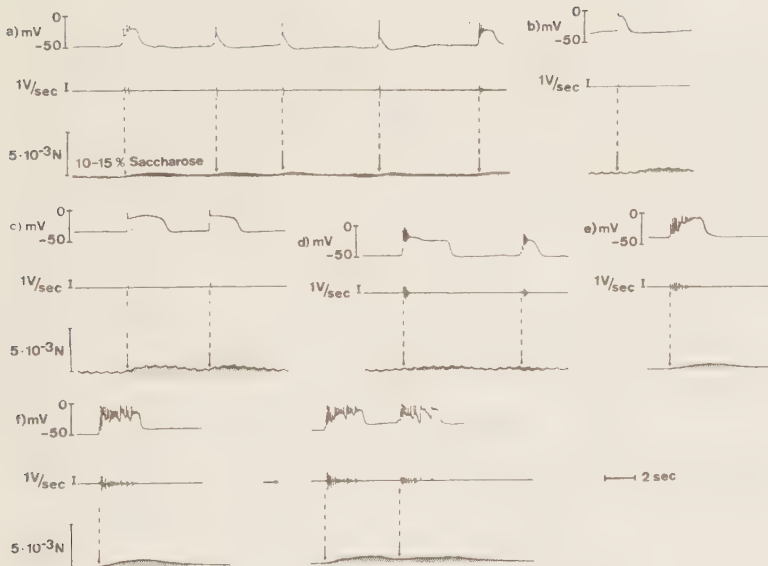


Abb. 14: Elektrische und reduzierte mechanische Spontanaktivität des Pyeloureters:

- Sowohl die spikeartige als auch die burstartige elektrische Spontanaktivität lösen eine mechanische Kontraktion aus.
- Die elektrische Aktivität erfolgt jeweils kurz vor der mechanischen.

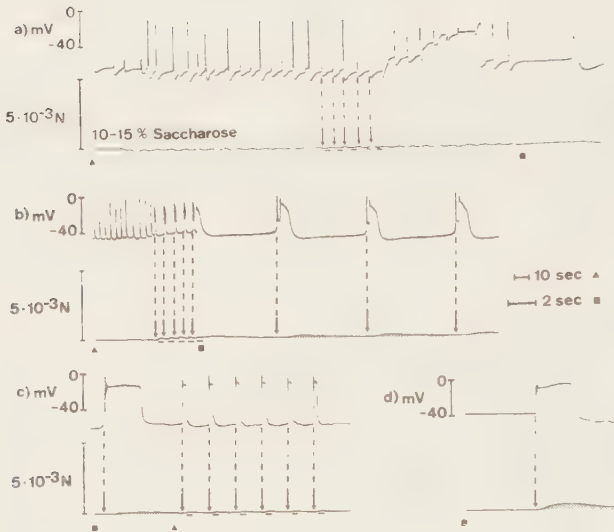


Abb. 15: Elektrische und reduzierte mechanische Spontanaktivität des Pyeloureters:

- Registrierung b) zeigt die Abhängigkeit der mechanischen von der elektrischen Spontanaktivität: Bursts scheinen eine kräftigere Kontraktion auszulösen als Spikes.

Wie bereits gezeigt, waren bei verschiedenen Präparaten unter gleichen Versuchsbedingungen spontan unterschiedliche elektrische Aktivitätsmuster zu beobachten.

Selbst bei dem gleichen Präparat produzierten einzelne glatte Muskelzellen spontan unterschiedliche Aktivitätsmuster (Abb. 16):

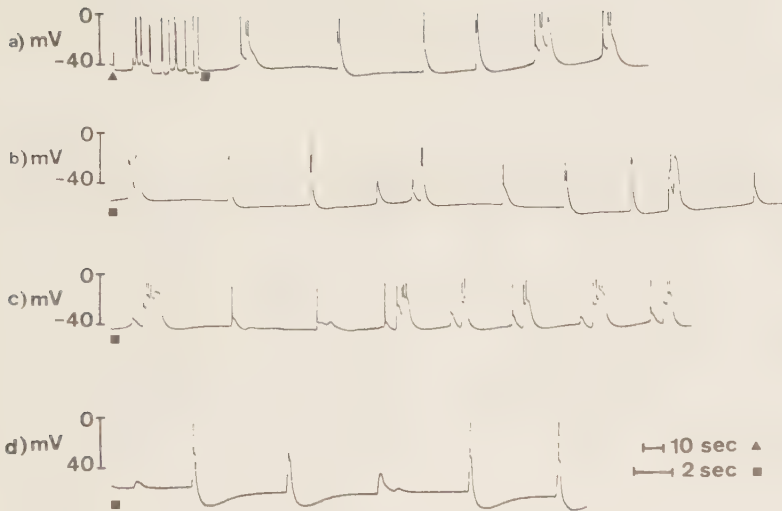


Abb. 16: Unterschiedliche elektrische Spontanaktivitäten einer Glattmuskelzelle des Pyeloureters:

- Zum Teil zeigen die Glattmuskelzellen kein einheitliches Aktivitätsmuster, sondern verschiedene Formen, die rein zufällig aufzutreten scheinen.
- Bei Ableitung d) wurden abortive Spikes registriert; diese weisen oft auf hemmende Einflüsse auf den Pyeloureter hin.

Als die spontane elektrische Anfangsaktivität mehrerer Präparate ($n = 63$) miteinander verglichen wurde, zeigte sich, daß die Aktivitätsmuster in mehrere Gruppen eingeteilt werden können (Abb. 17):

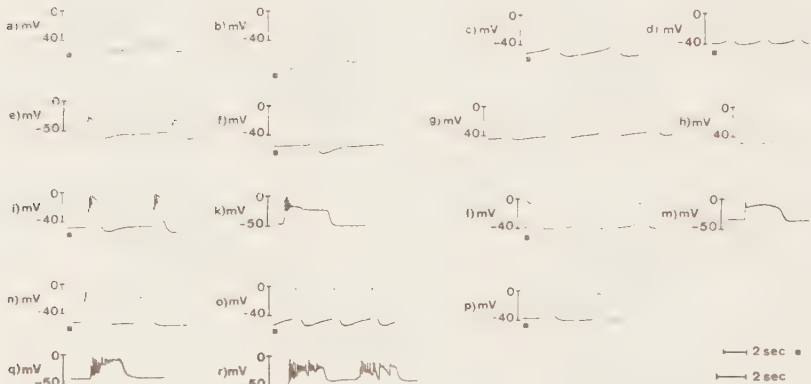


Abb. 17: Unterschiedliche elektrische Anfangsaktivität verschiedener Präparate:

a)-d) spikeartige Spontanaktivität

e)-r) burstartige Spontanaktivität

- e-h: mit superponierten Spikes ohne Plateauphase

- i-k: mit superponierten Spikes mit Plateauphase

- l-m: mit einem Aufstrich und Plateauphase

- n-p: nur mit Plateauphase

- q-r: mit vielen superponierten Spikes während langer Plateauphasen

Die elektrischen Anfangsaktivitäten unterscheiden sich nicht nur in ihrer Form, sondern auch in ihrer Frequenz (Abb. 18):

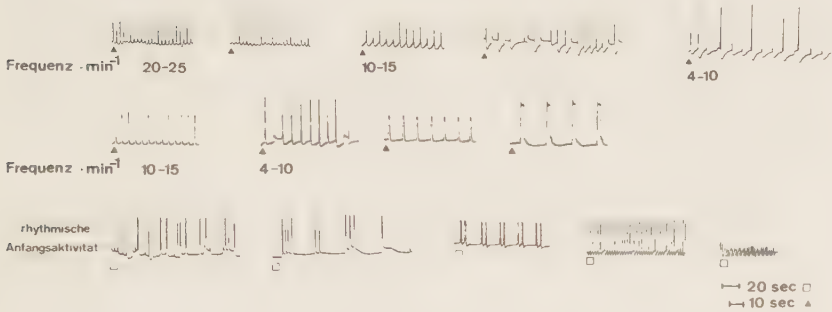


Abb. 18: Unterschiedliche Frequenzen der elektrischen Anfangsaktivität:

- obere Reihe: spikeartige Aktivitäten traten in einer schnellen ($20-25 \text{ min}^{-1}$), mittelschnellen ($10-15 \text{ min}^{-1}$) und langsamen ($4-10 \text{ min}^{-1}$) Frequenz auf,
- mittlere Reihe: burstartige Aktivitäten traten in der mittelschnellen und langsamen Frequenz auf,
- untere Reihe: in einigen wenigen Fällen wurde auch eine rhythmische Anfangsaktivität beobachtet.

2.3. QUANTITATIVE AUSWERTUNG DER ELEKTRISCHEN AUSGANGSAKTIVITÄT DES ISOLIERTEN PYELOURETERS DES MEERSCHWEINCHENS

Bei der Auswertung wurde zwischen fünf verschiedenen Ausgangsaktivitäten unterschieden:

- I) spikeartige (Abb. 17: a-d)
- II) burstartige mit superponierten Spikes ohne Plateauphase (Abb. 17: e-h)
- III) burstartige mit superponierten Spikes mit Plateauphase (Abb. 17: i-m)
- IV) burstartige ohne superponierte Spikes mit Plateauphase (Abb. 17: n-p)
- V) burstartige mit langer Plateauphase mit vielen superponierten Spikes (Abb. 17: q-r)

2.3.1. Relative Häufigkeit der verschiedenen Aktionsmuster:

- I) 17,2 %
- II) 45,31 %
- III) 9,38 % (n = 63)
- IV) 23,44 %
- V) 4,69 %

2.3.2. Ruhemembranpotential in mV:

	$\bar{x}$	s_x	$s_{\bar{x}}$	n
a) Gesamtdurchschnitt:	-46,27	$\pm 4,96$	$\pm 7,94$	63
b) Aufschlüsselung nach den einzelnen Aktions- mustern:				
I)	-45,36	$\pm 4,97$	$\pm 3,31$	11
II)	-46,97	$\pm 4,72$	$\pm 5,39$	29
III)	-50,33	$\pm 5,75$	$\pm 2,34$	6
IV)	-44,33	$\pm 4,53$	$\pm 3,87$	15
V)	-45	± 5	$\pm 2,89$	3

2.3.3. Amplitude in mV:

	$\bar{x}$	s_x	$s_{\bar{x}}$	n
a) Gesamtdurchschnitt:	44,23	$\pm 7,12$	$\pm 0,88$	64
b) Aufschlüsselung nach den einzelnen Aktions- mustern:				
I)	42,81	$\pm 5,47$	$\pm 1,65$	11
II)	46	$\pm 5,30$	$\pm 0,98$	29
III)	47	$\pm 8,76$	$\pm 2,44$	6
IV)	38,6	$\pm 5,28$	$\pm 1,36$	15
V)	46	$\pm 5,29$	$\pm 3,05$	3

3.4. Dauer des Aktionspotentials in sec :

	$\bar{x}$	s_x	$s_{\bar{x}}$	n
I)	0,36	$\pm 0,15$	$\pm 0,04$	11
II)	0,61	$\pm 0,19$	$\pm 0,04$	29
III)	1,2	$\pm 0,9$	$\pm 0,37$	6
IV)	1,16	$\pm 0,72$	$\pm 0,17$	15
V)	1,4	$\pm 0,12$	$\pm 0,07$	3

3.5. Frequenz in min :

	$\bar{x}$	s_x	$s_{\bar{x}}$	n
I)	19,27	$\pm 4,94$	$\pm 1,48$	11
II)	14,13	$\pm 4,87$	$\pm 5,38$	29
III)	9	$\pm 5,54$	$\pm 2,26$	6
IV)	12,86	$\pm 5,7$	$\pm 1,48$	15
V)	5	± 2	$\pm 1,15$	3

3.6. Maximale Anstiegsgeschwindigkeit:

Die durchschnittliche maximale Anstiegsgeschwindigkeit betrug bei 40 Ableitungen $0,9 \text{ V/sec} \pm 0,32$.

Die statistische Erfassung dieser elektrischen Anfangsaktivität erbrachte somit folgende Ergebnisse:

Die burstartigen Aktivitätsmuster treten spontan häufiger auf (82,2%) als die spikeartigen (17,2%).

Das Ruhemembranpotential beträgt im Mittel $-46 \pm 4,96$ mV, die Amplitude $44 \pm 7,12$ mV. Sowohl das RMP als auch die Amplitude zeigen keine Abhängigkeit von dem Aktionsmuster.

Die Dauer eines Aktionspotentials variiert zwischen 0,36 sec für Spikes und 1,4 sec für Bursts mit langer Plateauphase.

Die Frequenz ist abhängig von der Dauer des Aktionspotentials. So werden die höchsten Frequenzen (25 min^{-1}) bei spikeartigen Aktionspotentialen gemessen, während die Frequenz bei Bursts mit längerer Plateauphase bis auf 4 min^{-1} abnimmt.

Die maximale Anstiegsgeschwindigkeit der elektrischen Spontanaktivität ist relativ langsam, wenn man sie mit der anderer Glattmuskelpreparate (zB. *T. coli*) vergleicht.

3. DER EINFLUSS VON IONEN AUF DIE ELEKTRISCHE UND MECHANISCHE SPONTANAKTIVITÄT DES PYELOURETERS

Zunächst wurde der Einfluß der ionalen Zusammensetzung des extrazellulären Milieus auf die elektrische und mechanische Spontanaktivität des Pyeloureters studiert. Da an Humanpräparaten nicht möglich (siehe S. 117) wurde die elektrische Aktivität ausschließlich an Meerschweinchenpräparaten untersucht. Soweit nicht anders angegeben, beziehen sich die folgenden Ausführungen und Abbildungen auf den Pyeloureter des Meerschweinchens.

Um bei der Bewertung der zu beobachtenden Wirkungen Fehler auszuschließen, wurde bei den Kalium-, Calcium-, und Natrium-Versuchen zwischen einer Ausgangssituation mit burstartiger und einer mit spikeartiger Aktivität unterschieden.

3.1. EINFLUSS VON KALIUMCHLORID AUF DIE ELEKTRISCHE UND MECHANISCHE SPONTANAKTIVITÄT

Zur Untersuchung der Abhängigkeit der Spontanaktivität von der extrazellulären KCl-Konzentration wurde das Präparat in hyperosmolarer McEwen-Lösung (17,5% Saccharose) inkubiert, deren KCl-Konzentration durch schrittweise Zugabe erhöht wurde. Um die KCl-Konzentration zu senken, wurde die Inkubationslösung durch eine McEwen-Lösung mit entsprechend niedrigerer KCl-Menge ausgetauscht.

3.1.1. KALIUM-ARME LÖSUNG

Bei diesen Versuchen wurde die KCl-Konzentration auf ein Viertel und auf ein Zehntel der Ausgangsmenge reduziert.

In der McEwen Lösung mit vermindertem KCl-Gehalt wandelt sich eine burstartige Aktivität in eine spikeartige um (Abb. 19A). Die Dauer der Bursts halbiert sich. Die Form einer spikeartigen Anfangsaktivität bleibt bei KCl-Entzug konstant.

Die Frequenz nimmt bei der Umwandlung von Bursts in Spikes um 50% zu. Ab einer KCl-Konzentration von $2,8 \cdot 10^{-3}$ mol/l wird die elektrische Spontanaktivität zunehmend gehemmt.

Die Amplitude nahm bei einer Konzentration von $1,4 \cdot 10^{-3}$ mol/l um 30% ab (Tabelle 2).

Das Membranpotential erhöht sich um 3-4 mV.

Die maximale Anstiegsgeschwindigkeit wird auf 93% des Ausgangswertes reduziert (Abb. 19C).

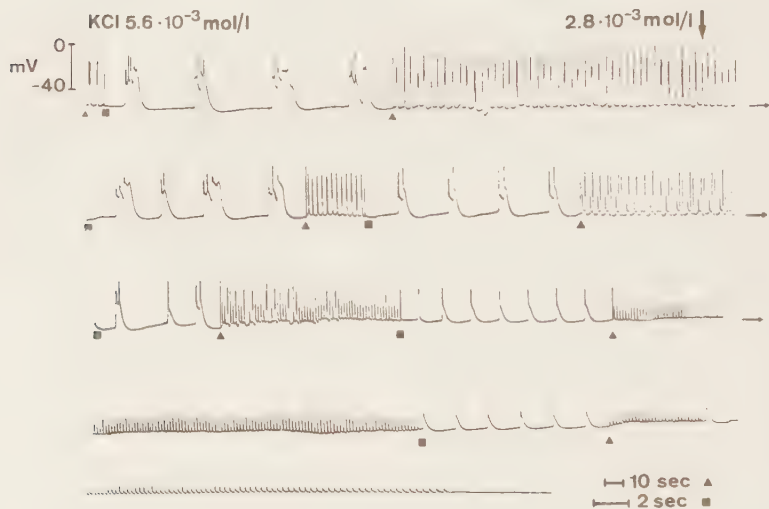


Abb. 19A: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei reduziertem KCl-Gehalt der McEwen Lösung:

- Bei einer Konzentration von $2,8 \cdot 10^{-3}$ mol/l erfolgt der Übergang von Spikes in Bursts.
- In der Endphase ist eine kontinuierliche Abnahme von Amplitude und Frequenz zu beobachten.

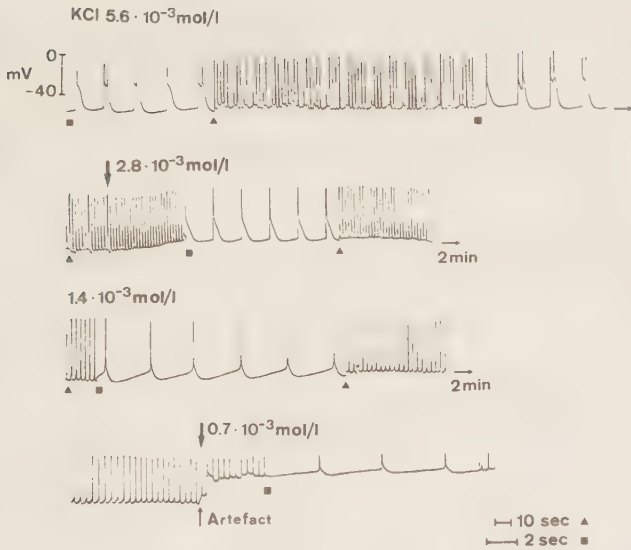


Abb. 19B: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei reduziertem KCl-Gehalt der McEwen Lösung:

- Bei einer Konzentration von $2,8 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ erfolgt der Übergang von Doppelspikes zu Spikes.
- Bei einer Konzentration von $1,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ verschwindet auch jeder Ansatz einer Plateauphase.

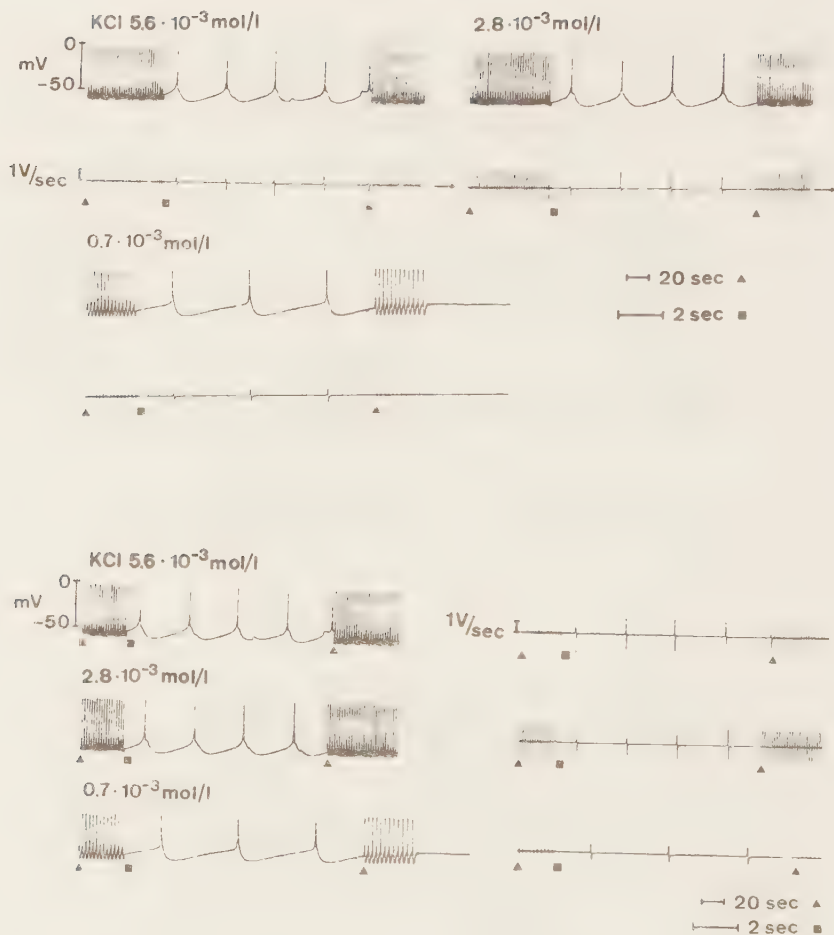


Abb. 19C: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei reduziertem KCl-Gehalt der McEwen Lösung:

- Abnahme der maximalen Anstiegsgeschwindigkeit bei erniedrigter KCl-Konzentration; zur besseren Übersicht wurden die gleichzeitig mit der elektrischen Aktivität registrierten Differentialfunktionen einmal synchron mit den Aktionspotentialen und einmal getrennt hintereinander dargestellt.

Tabelle 2: Hier sind die Parameter der elektrischen Aktivität in normaler McEwen Lösung, denen in einer mit $2,8 \cdot 10^{-3}$ mol/l und $1,4 \cdot 10^{-3}$ mol/l KCl gegenübergestellt. Die prozentuale Angabe bezieht sich auf die Ausgangsaktivität. Es wird zwischen einer burstartigen und einer spikeartigen Ausgangsaktivität unterschieden:

	$2,8 \cdot 10^{-3}$ mol/l KCl	$1,4 \cdot 10^{-3}$ mol/l KCl

a) burstartige		
Ausgangsaktivität:		
RMP	115,8% $\pm$ 19,6	111,3% $\pm$ 5,6
APF	155,0% $\pm$ 53,3	148,1% $\pm$ 50,4
Burst-Dauer	49,2% $\pm$ 9,3	29,0% $\pm$ 1,4
Amplitude	95,6% $\pm$ 10,2	65,0% $\pm$ 43,8
(n = 6)		

b) spikeartige		
Ausgangsaktivität:		
RMP	104,0% $\pm$ 12,5	
APF	113,0% $\pm$ 7,6	
AP-Dauer	99,4% $\pm$ 14,7	
Amplitude	101,8% $\pm$ 4,8	
(n = 6)		

3.1.2. KALIUM-REICHE LÖSUNG

Eine spikeartige Aktivität wird bei der Zugabe von KCl zu einer burstartigen umgewandelt (Abb. 20A). Die AP-Dauer steigt im Mittel um 225%.

Eine burstartige Aktivität wird durch eine KCl-Zugabe nur modifiziert. So nimmt die Dauer der Bursts ab, und die superponierten Spikes werden gedämpft (Abb. 20B).

Die Frequenz sinkt beim Übergang von spike- zu burstartiger Aktivität stark ab, steigt aber dann bei einer weiteren KCl-Konzentrationserhöhung wie auch bei anfänglicher Burstaktivität an. Manchmal kommt es unmittelbar nach der Zugabe von KCl in der

Adaptationsphase für die Dauer von etwa 2 Minuten zu einer vorübergehenden Verminderung der Frequenz (Abb. 20A).

Das Ruhemembranpotential wird bei der 8-fachen KCl-Konzentration $4,8 \cdot 10^{-2}$ mol/l um ca. 8 mV gegenüber der Membranspannung in normaler McEwen Lösung depolarisiert.

Die Amplitude verkleinert sich bei KCl-Zugabe, und auch die Anstiegsgeschwindigkeit fällt auf die Hälfte ihres Ausgangswertes ab (Abb. 20A,C und Tab. 3).

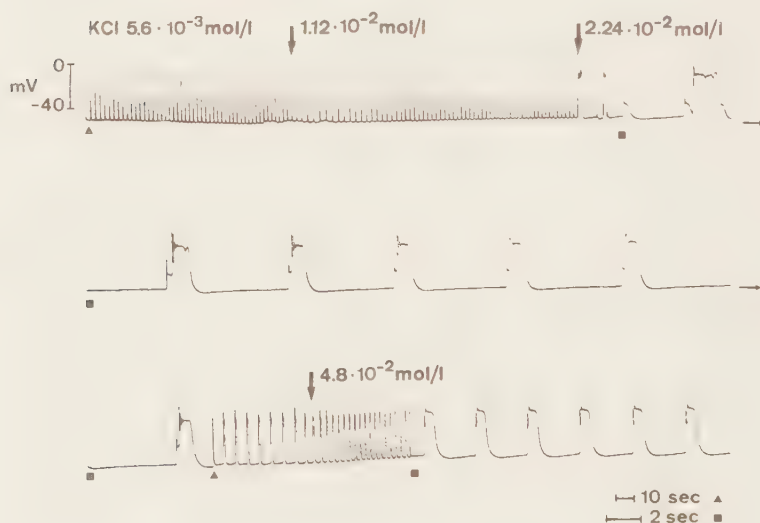


Abb. 20A: Elektrische Spontanaktivität in einer McEwen Lösung mit erhöhtem KCl-Gehalt:

- Verminderte AP-Frequenz in der Adaptationsphase nach der Konzentrationsänderung auf $1,12 \cdot 10^{-2}$ mol/l.
- Umschlag von Spike- auf Burstaktivität bei einer KCl-Konzentration von $2,24 \cdot 10^{-2}$ mol/l.
- Frequenzzunahme, Abnahme der Burstdauer und Verminderung des RMP bei einer KCl-Konzentration von $4,8 \cdot 10^{-2}$ mol/l.

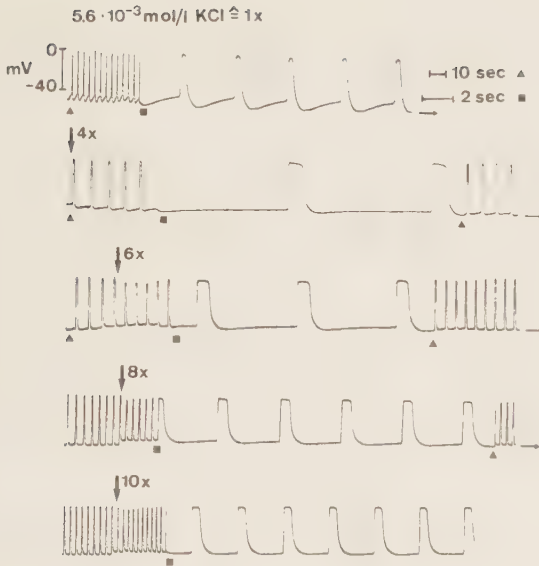


Abb. 20B: Elektrische Spontanaktivität in einer McEwen Lösung mit erhöhtem KCl-Gehalt:

- Die Dauer der Bursts nimmt zunächst bei der 4-fachen KCl-Konzentration zu. Bei der weiteren Steigerung der KCl-Konzentration fällt sie jedoch wieder langsam ab.
- Die Frequenz steigt fast linear an.

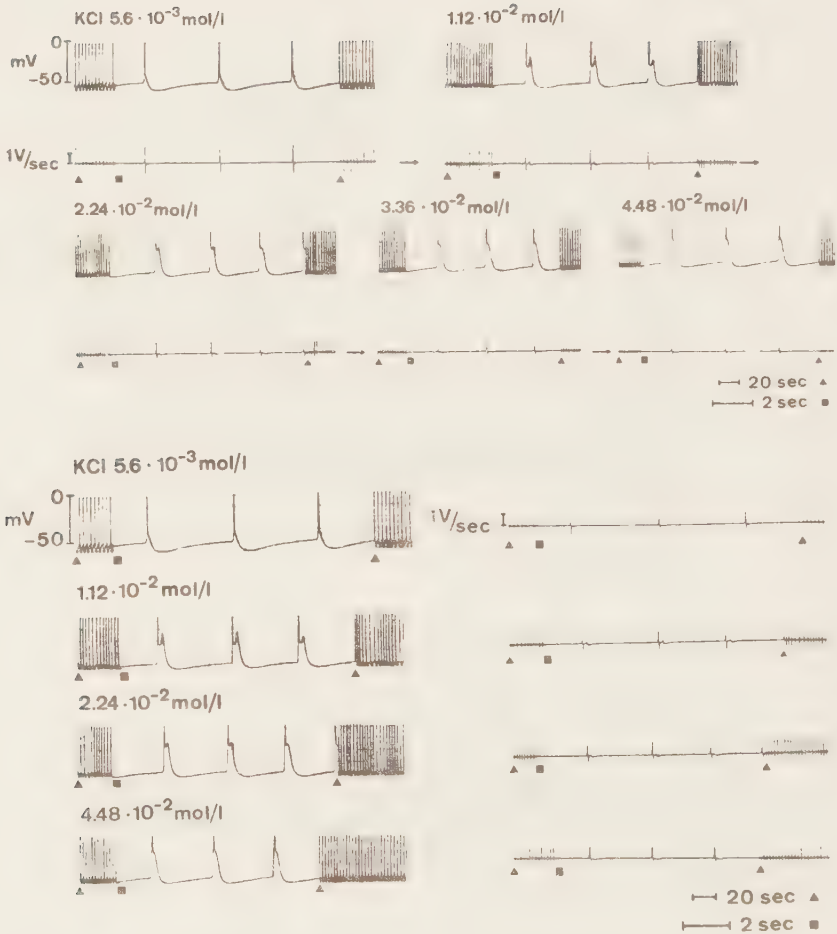


Abb. 20C: Elektrische Spontanaktivität in einer Mc-Ewen Lösung mit erhöhtem KCl-Gehalt:

- Zur besseren Übersicht ist die Differentialfunktion einmal, wie registriert, synchron unter der elektrischen Aktivität und einmal gesondert parallel untereinander dargestellt.
- Bei einer Konzentration von $1.12 \cdot 10^{-2} \text{ mol/l}$ entsteht eine Doppelspikeaktivität. Die weitere Steigerung des KCl-Gehaltes unterdrückt den zweiten Spike und verkürzt die Plateauphase.
- Die maximale Anstiegsgeschwindigkeit fällt um 50% ab.

TABELLE 3: Hier sind die Parameter der elektrischen Aktivität bei der Erhöhung der KCl-Konzentration auf das Vierfache und auf das Achtfache der Ausgangssituation (= 100%) aufgelistet:

	2,24*10 ⁻² mol/l KCl	4,48*10 ⁻² mol/l KCl

a) burstartige		
Anfangsaktivität:		
RMP	93,8% ± 4,9	79,7% ± 3,6
APF	78,8% ± 45,1	97,7% ± 38,7
Burst-Dauer	266,0% ± 100	224,7% ± 90,5
Amplitude	103,6% ± 11,7	91,2% ± 2,5
(n = 5)		

b) spikeartige		
Anfangsaktivität:		
RMP	88,7% ± 8,8	78,0% ± 2,8
APF	116,5% ± 50,1	158,0% ± 53,2
AP-Dauer	108,2% ± 24,7	73,2% ± 7,8
Amplitude	94,7% ± 4,2	84,5% ± 6,3
(n = 5)		

3.1.3. KALIUMEINFLUSS AUF DIE MECHANISCHE AKTIVITÄT DES URETERS

Der Einfluß der KCl-Konzentration in der Inkubationslösung auf die mechanische Spontanaktivität des Ureters wurde sowohl an Meerschweinchen- als auch an Humanpräparaten studiert.

Die Versuchsbedingungen, unter denen die Experimente durchgeführt wurden entsprachen denen, die auch bei den elektrischen Ableitungen vorlagen.

Bei der KCl-Zunahme zeigt sich eine starke Steigerung der Frequenz mit einem Maximum bei der sechsfachen KCl-Konzentration. Bei weiterer Erhöhung der KCl-Konzentration folgt ein rapider Abfall der Frequenz (Abb. 21).

Die Amplitude steigt bei Verdopplung des KCl-Gehaltes um ein Drittel ihres Ausgangswertes, bleibt aber dann bis zur sechsfachen KCl-Konzentration konstant. Wird dieser Wert überschritten, so sinkt sie schnell ab.

Bei der KCl-Abnahme fällt die Frequenz sehr schnell, die Amplitude jeweils etwas langsamer ab.

TABELLE 4: Hier sind die Änderung von Amplitude und Frequenz in Prozent ihres Ausgangswertes (= 100%) aufgelistet:

mol/l KCl:	$4,2 \cdot 10^{-3}$	$5,6 \cdot 10^{-3}$	$2,24 \cdot 10^{-2}$
Amplitude:	94,5% $\pm$ 10	100%	133,0% $\pm$ 52
Frequenz :	49,5% $\pm$ 14	100%	177,4% $\pm$ 55

mol/l KCl	$3,36 \cdot 10^{-2}$	$4,48 \cdot 10^{-2}$
Amplitude:	133,1% $\pm$ 60	120,0 $\pm$ 40
Frequenz :	428,6% $\pm$ 93	133,0 $\pm$ 30

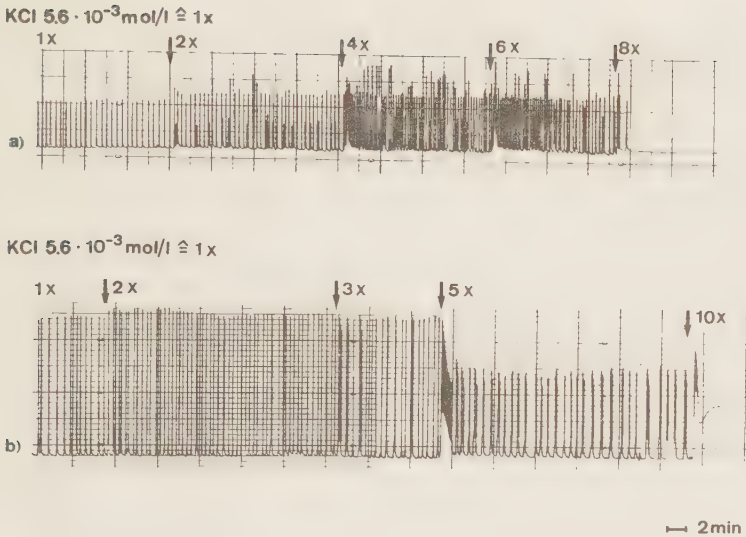


Abb. 21: Mechanische Spontanaktivität des Ureters a) des Meer-schweinchens und b) des Menschen bei schrittweise erhöhter KCl-Konzentration:

- Aufzeichnung a) zeigt einen deutlichen Frequenzanstieg der Spontankontraktionen bei KCl-Zugabe. Ab der 8-fachen KCl-Konzentration ruht die mechanische Aktivität.
- Die Amplitude ist allgemein nur gering erhöht, wenn zum Teil auch sehr viel stärkere Kontraktionen auftreten.
- Auch Aufzeichnung b) zeigt einen deutlichen Frequenzanstieg. Er ist hier allerdings nicht so leicht erkennbar, da plötzlich burstartige Kontraktionsmuster auftreten. Die Amplitude sinkt bereits bei der 5-fachen KCl-Konzentration beträchtlich ab. Eine 10-fache KCl-Konzentration hemmt die mechanische Aktivität völlig. Es kommt zu einer Kontraktur der glatten Muskulatur.

3.2. EINFLUSS VON CALCIUMCHLORID AUF DIE ELEKTRISCHE UND MECHANISCHE SPONTANAKTIVITÄT

Auch diese Versuche wurden zunächst in hyperosmolarer McEwen Lösung begonnen, deren CaCl_2 -Gehalt dann schrittweise reduziert oder erhöht wurde.

In einigen Versuchsreihen wurde zu der normalen McEwen Lösung BaCl_2 bzw. MgCl_2 zugegeben, um CaCl_2 kompetitiv zu verdrängen.

3.2.1. CALCIUM-ARME LÖSUNGEN

Bei der Inkubation des Pyeloureters in eine McEwen Lösung mit vermindertem CaCl_2 -Gehalt verwandelt sich die spikeartige Aktivität in eine burstartige (Abb. 22A,C). Auch eine anfängliche Burstaktivität verändert sich. Die Burstdauer nimmt bei halbiertem CaCl_2 -Gehalt um 20% zu, um dann bei weiterem CaCl_2 -Entzug abzunehmen. Die superponierten Spikes der Bursts werden gedämpft. In einigen Fällen ruft CaCl_2 -Entzug auch eine typische Rhythmisierung der Aktivität hervor; es sind Gruppen von mehreren Spikes, gefolgt von einem Burst, zu beobachten (Abb. 22B).

Die Amplitude nahm erst bei einer CaCl_2 -Konzentration von wenigstens $1,08 \cdot 10^{-3}$ mol/l ab.

Die Muskelzellmembran wird bei einer CaCl_2 -Konzentration von $2,16 \cdot 10^{-4}$ mol/l um etwa 8-12 mV depolarisiert.

Die Frequenz und die maximale Anstiegsgeschwindigkeit sinken schnell ab.

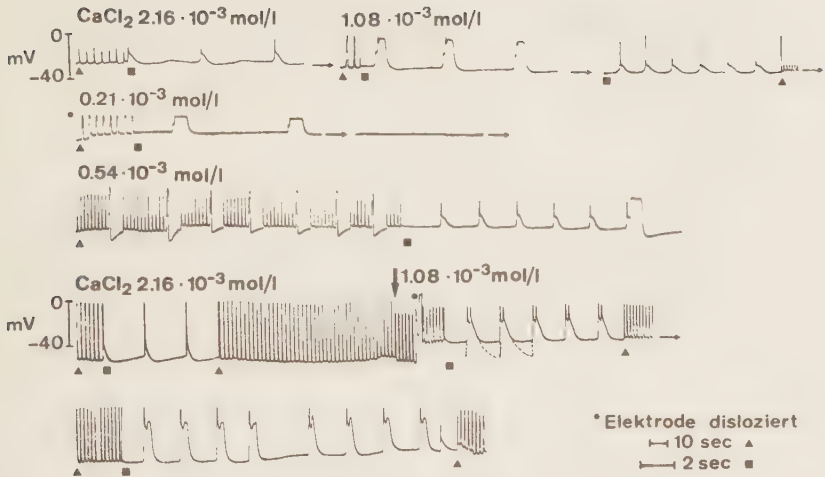


Abb. 22A: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei reduziertem CaCl_2 -Gehalt:

- Beide Ableitungen zeigen den Übergang von Spikes in Bursts oder Doppelspikes bei einer Halbierung der CaCl_2 -Konzentration ($1,08 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$).
- Die obere Registrierung zeigt bei dem verminderten CaCl_2 -Gehalt auch noch eine starke Rhythmisierung der elektrischen Aktivität auf.



Abb. 22B: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei reduziertem CaCl_2 -Gehalt:

- Bei einer CaCl_2 -Konzentration von $1.08 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ ist die Burstdauer verlängert. Bei einer weiteren Verminderung von CaCl_2 wird die Burstdauer wieder verkürzt; die superponierten Spikes werden gedämpft.

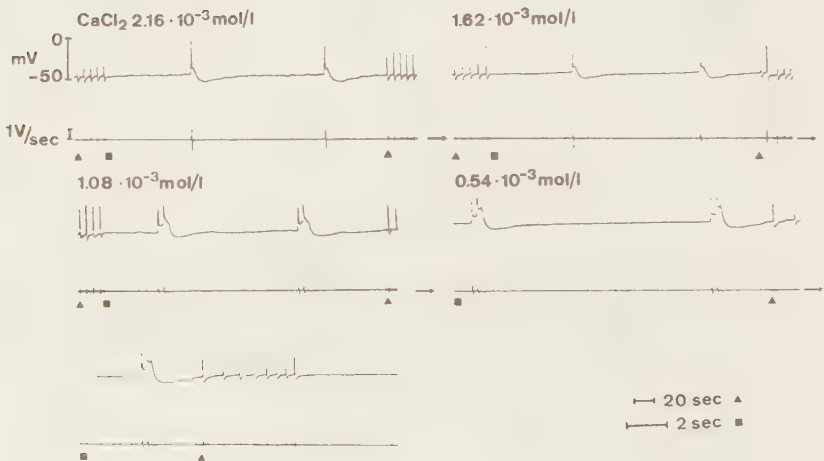


Abb. 22C: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei reduziertem CaCl_2 -Gehalt:

- Die maximale Anstiegsgeschwindigkeit nimmt kontinuierlich ab.
- Die Spikes werden in Bursts umgewandelt.

TABELLE 5: Hier sind die Parameter der elektrischen Aktivität bei Erniedrigung der CaCl_2 -Konzentration in Prozent des Ausgangswertes (= 100%) aufgelistet:

	1,08*10 ⁻³ mol/l CaCl_2	2,16*10 ⁻⁴ mol/l CaCl_2

a) burstartige		
Anfangsaktivität:		
RMP	93,4% ± 50,6	63,3% ± 14,0
APF	68,8% ± 15,7	30,5% ± 1,0
Burst-Dauer	121,0% ± 20,1	81,0% ± 3,3
Amplitude	101,0% ± 6,5	87,3% ± 26,8
(n = 6)		

b) spikeartige		
Anfangsaktivität:		
RMP	90,0% ± 14,6	84,0% ± 10,3
APF	63,4% ± 15,4	20,2% ± 12,4
AP-Dauer	253,2% ± 65,9	250,0% ± 9,2
Amplitude	108,4% ± 19,0	87,3% ± 5,3
(n = 6)		

3.2.2. CALCIUM-REICHE LÖSUNG

Nach Zugabe von CaCl_2 zur normalen McEwen Lösung wird eine burstartige Anfangsaktivität in eine spikeartige umgewandelt (Abb. 23 A-C).

Eine anfängliche spikeartige Aktivität wird in ihrer Form nicht verändert. Es kommt aber zu einer Hemmung der AP-Bildung: Die Frequenz sinkt stark ab; es entstehen abortive Spikes.

Die Zellmembran wird hyperpolarisiert; das RMP ist um ca 5-6 mV erhöht.

Die Amplitude steigt nur unwesentlich, während die maximale Anstiegsgeschwindigkeit sich um 50% erhöht.

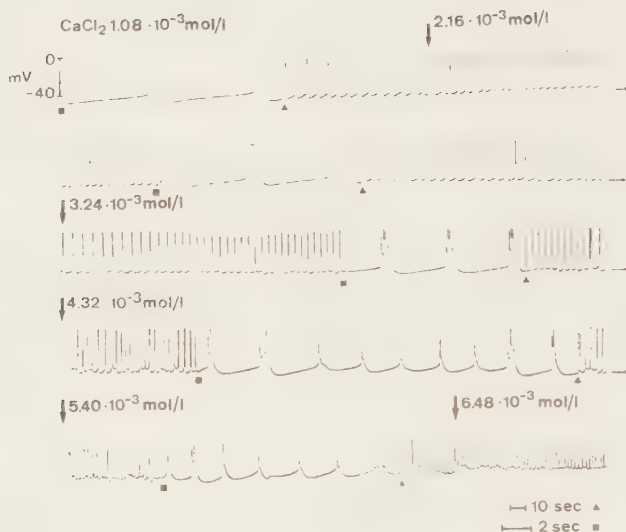


Abb. 23A: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei erhöhtem CaCl_2 -Gehalt:

- Als Ausgangskonzentration wurde hier die Hälfte der normalen CaCl_2 -Konzentration gewählt.
- Bei normaler CaCl_2 -Konzentration ($2,16 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$) erscheint der Spike des Aufstrichs stärker abgesetzt.
- Bei $3,24 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ CaCl_2 ist eine Zunahme der superponierten Spikes der burstartigen Aktivität zu sehen.
- Ab einer Konzentration von $4,32 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ CaCl_2 treten zunehmend Spikes auf.

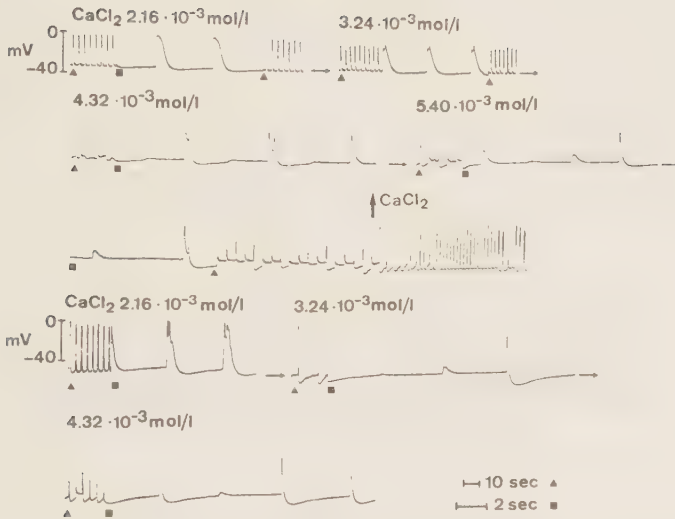


Abb. 238: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei erhöhtem CaCl₂-Gehalt:

- Bei beiden Ableitungen treten ab einer CaCl₂-Konzentration von $3,24 \cdot 10^{-3}$ mol/l Spikes auf.
- Die Frequenz sinkt ab, und es sind vermehrt abortive Spikes zu beobachten.

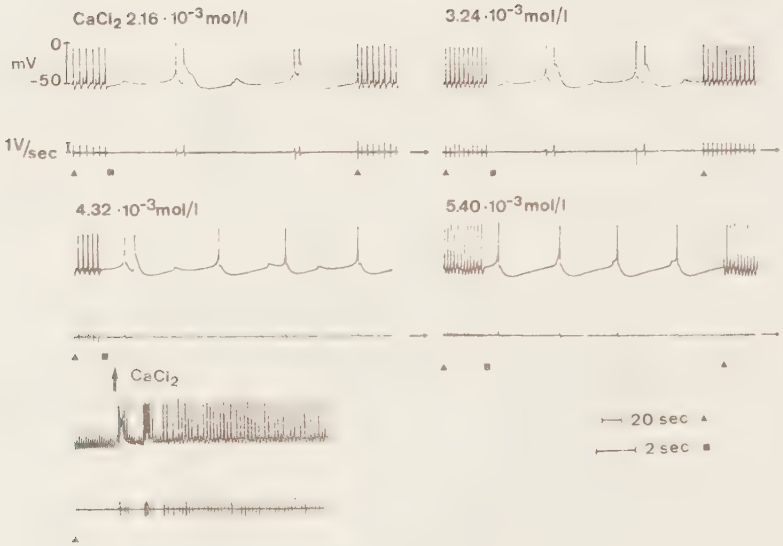


Abb. 23C: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei erhöhtem CaCl_2 -Gehalt:

- Die maximale Anstiegsgeschwindigkeit steigt.
- Das Auswaschen der hohen CaCl_2 -Konzentration provoziert hier Bursts mit vielen sehr hochfrequenten, superponierten Spikes.

TABELLE 6: Hier sind die Parameter der elektrischen Aktivität bei der Erhöhung der CaCl_2 -Konzentration in Prozent ihrer Ausgangswerte (= 100%) dargestellt:

	$3,24 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ CaCl_2	$4,32 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ CaCl_2	$5,40 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ CaCl_2
burstartige			
Ausgangsaktivität:			
RMP	$107,0\% \pm 4,7$	$115,0\% \pm 9,0$	$125,3\% \pm 16,0$
APF	$116,5\% \pm 50,9$	$65,0\% \pm 30,2$	$37,6\% \pm 13,5$
Burst-Dauer	$58,8\% \pm 23,1$	$37,6\% \pm 18,8$	$40,6\% \pm 17,7$
Amplitude	$109,2\% \pm 15,7$	$119,0\% \pm 19,3$	$114,0\% \pm 12,7$
(n = 6)			

3.2.3. CALCIUMEINFLUSS AUF DIE MECHANISCHE AKTIVITÄT DES URETERS

Die Inkubationsbedingungen waren bei der Registrierung der mechanischen Spontanaktivität mit denen bei der elektrischen Ableitung identisch.

Bei der schrittweisen Verminderung des CaCl_2 -Gehaltes in der Inkubationslösung nehmen die Frequenz und die Amplitude ab, bei der CaCl_2 -Zunahme bleibt die Amplitude in einem weiten Bereich konstant, die Frequenz fällt stark ab.

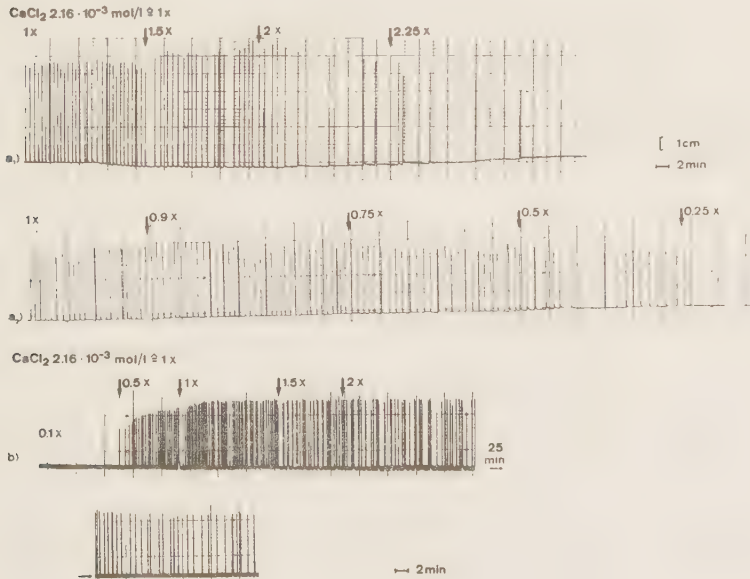


Abb. 24A: Mechanische Spontanaktivität des Ureters des Meerschweinchens a₁) und a₂) und des Menschen b) bei einem erniedrigten und einem erhöhten CaCl_2 -Gehalt:

- Bei reduziertem CaCl_2 -Gehalt sinken beim Meerschweinchenureter Frequenz und Amplitude.
- Bei einer CaCl_2 -Konzentrationssteigerung fällt sowohl bei Meerschweinchen- als auch bei Humanpräparaten die Frequenz ab.
- Die Amplitude bleibt bei Humanpräparaten nahezu konstant, während sie beim Ureter des Meerschweinchens nach einer anfänglichen leichten Zunahme in der Endphase schnell abnimmt.

TABELLE 7: Hier sind die Änderungen von Amplitude und Frequenz in Prozent ihrer Ausgangswerte (= 100%) aufgeführt:

$2,16 \cdot 10^{-3}$ mol/l

= 1x CaCl ₂		0,25x	0,5x	0,75x	0,8x		
Amplitude	(70%)	80,5%	± 10,2	86,8%	± 7,0	94,0%	± 4,2
Frequenz	(60%)	83,5%	± 14,4	96,0%	± 22,9	102,4%	± 10,4

	1x	1,5x	2x	2,25x
Amplitude	100%	117,7%	$\pm 15,5$	$\pm 11,5$ (83%)
Frequenz	100%	60,2%	$\pm 22,6$	$\pm 23,5$ (23%)

3.2.4. EINFLUSS VON BARIUM

Nach der Äquilibrierungsphase des Präparates wurde Bariumchlorid der Inkubationslösung zugesetzt.

Nach der Zugabe von $2,16 \cdot 10^{-3}$ mol/l BaCl_2 ist eine starke Modulation der elektrischen Aktivität zu beobachten. Eine spikeartige Aktivität wird in eine burstartige mit ruhiger Plateauphase, also ohne superponierte Spikes, umgewandelt. Bei einer weiteren Erhöhung der BaCl_2 -Konzentration nimmt die Plateauphase des Aktionspotentials weiter zu (Abb. 25 A-C). Die superponierten Spikes der burstartigen Aktivität werden gedämpft und die Plateauphase verlängert.

Die Amplitude bleibt nahezu konstant, während das Ruhemembranpotential um etwa 9 mV depolarisiert wird.

Die Frequenz nimmt nur bei der ersten BaCl_2 -Zugabe um 17% zu, bleibt dann aber nahezu konstant.

Die maximale Anstiegsgeschwindigkeit sinkt auf die Hälfte ihres Ausgangswertes.

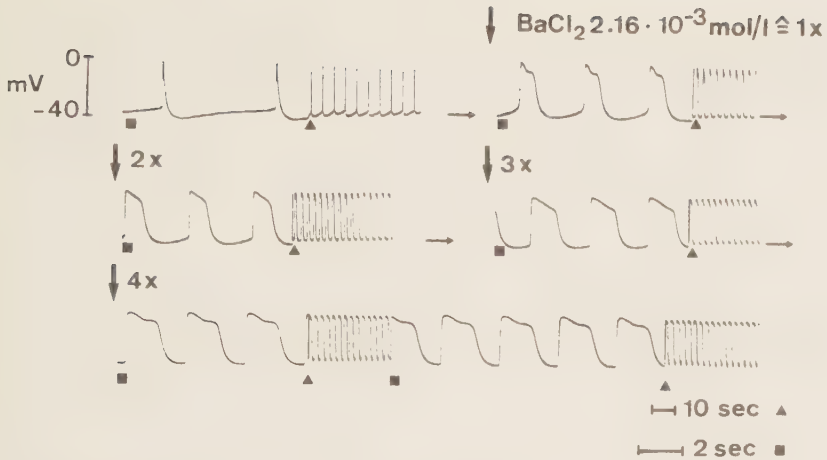


Abb. 25A: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei Zugabe von BaCl_2 :

- Bariumchlorid verursacht burstartige Aktivität.
- Es führt zu einer extremen Verlängerung der Burstdauer.
- Die Plateauphase ist völlig stabil ohne superponierte Spikes.

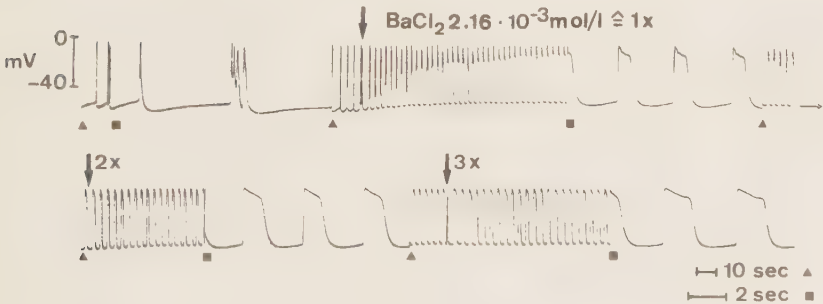


Abb. 25B: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei Zugabe von BaCl_2 :

- BaCl_2 blockiert die Bildung der superponierten Spikes. Es entsteht eine stabile Plateauphase.
- Mit der Erhöhung der BaCl_2 -Konzentration nimmt auch die Dauer der Plateauphase zu.
- Das RMP nimmt ab, insbesondere bei der ersten Zugabe von BaCl_2 .

TABELLE 8: Hier sind die Parameter der elektrischen Aktivität bei Bariumzugabe in Prozent ihrer Ausgangswerte (= 100%) aufgeschlüsselt:

	2,16*10 ⁻³ mol/l BaCl ₂		4,32*10 ⁻³ mol/l BaCl ₂		6,48*10 ⁻³ mol/l BaCl ₂	
RMP	89,0%	± 6,6	82,5%	± 9,0	78,7%	± 14,5
APF	171,2%	± 63,6	172,2%	± 46,8	185,0%	± 37,4
AP-Dauer	273,2%	± 90,2	336,5%	± 83,3	513,0%	± 110
Amplitude	100,0%	± 9,7	105,2%	± 14,1	108,7%	± 15,3
(n = 6)						

3.2.5. EINFLUß VON MAGNESIUM AUF DIE ELEKTRISCHE UND MECHANISCHE SPONTANAKTIVITÄT DES PYELOURETERS

Die Zugabe von Magnesiumchlorid (wie in der modifizierten Krebs-Lösung) bzw Magnesiumsulfat (wie in der Krebs-Ringer-Lösung) veränderte die Form der Aktionspotentiale nicht einheitlich (Abb. 26 A-C). Sie hat jedoch einen negativen Einfluß auf die Frequenz der elektrischen Aktivität. Dabei ist die hemmende Wirkung von MgSO₄ viel stärker als die von MgCl₂ (Abb. 26C). So kommt die elektrische Spontanaktivität bei einer Zugabe von 2,36*10⁻³ mol/l MgSO₄ völlig zum Erliegen, während MgCl₂ bis zu einer Konzentration von 7,2*10⁻³ mol/l zugesetzt werden kann, bis eine Hemmung eintritt.

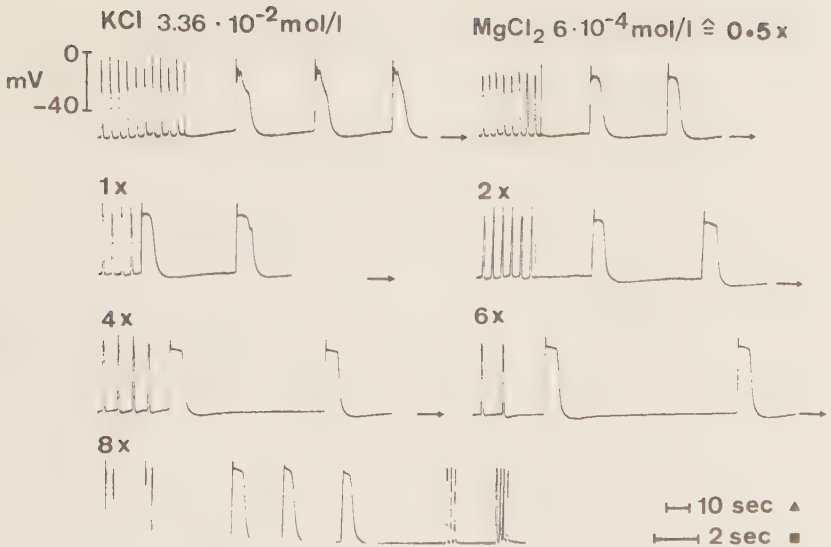


Abb. 26A: Elektrische Spontanaktivität bei schrittweiser Zugabe von MgCl_2 :

- Durch KCl -Zugabe wird zunächst eine Burstaktivität hervorgerufen.
- Die Frequenz nimmt kontinuierlich ab.
- Ab der 6-fachen MgCl_2 -Konzentration ($7,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$) entsteht eine Bigemenie, die bei der 8-fachen Konzentration ($8,4 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$) in eine Trigemenie umschlägt.
- Es ist kein eindeutiger Einfluß von MgCl_2 auf die Form der elektrischen Aktivität zu sehen.

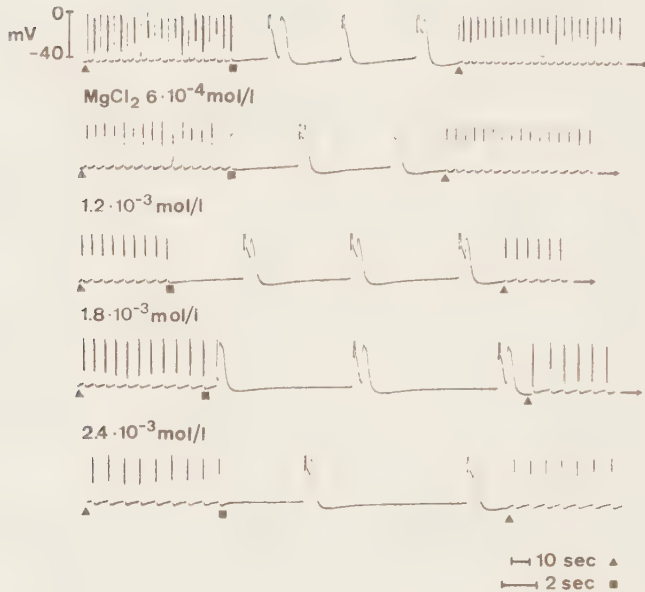


Abb. 26B: Elektrische Spontanaktivität bei schrittweiser Zugabe von MgCl_2 :
- Die Frequenz nimmt kontinuierlich ab.

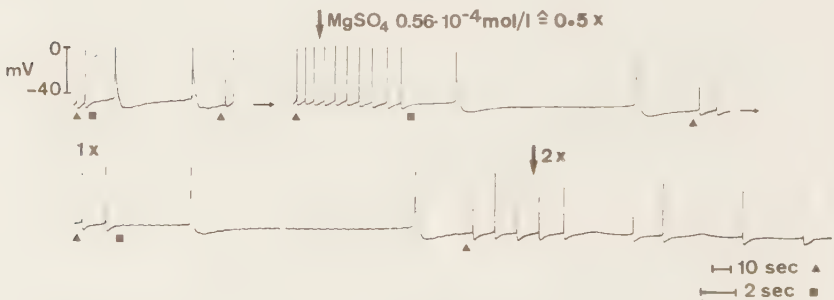


Abb. 26C: Elektrische Spontanaktivität bei schrittweiser Zugabe von MgSO_4 :
- Die elektrische Spontanaktivität ist bereits bei der 2-fachen Konzentration ($2,36 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$) völlig blockiert.

TABELLE 9: Hier wird die Frequenzabnahme nach Zugabe von MgCl_2 der nach Zugabe von MgSO_4 gegenübergestellt (Anfangsfrequenz = 100%).

$1,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$

= $1 \times \text{MgCl}_2$

0,5x

1x

2x

4x

6x

85%

71%

58%

51%

43%

$1,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$

= $1 \times \text{MgSO}_4$

0,5x

1x

2x

64%

47%

28%

Ende der Aktivität

Im Gegensatz zur elektrischen Aktivität spricht die mechanische Aktivität viel stärker auf eine Erhöhung der Magnesiumkonzentration an. Schon bei einer Konzentration von $9 \cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$ (0,75x) sinkt die Frequenz bei konstanter Amplitude um die Hälfte ab (Abb. 26D). Eine weitere Konzentrationserhöhung läßt auch die Amplitude stark abfallen. Die mechanische Aktivität wird bei einer MgCl_2 -Konzentration von $1,8 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ (1,5x) vollständig unterbunden (Abb. 26D).

$\text{MgCl}_2 \cdot 1,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l} \hat{=} 1 \times$

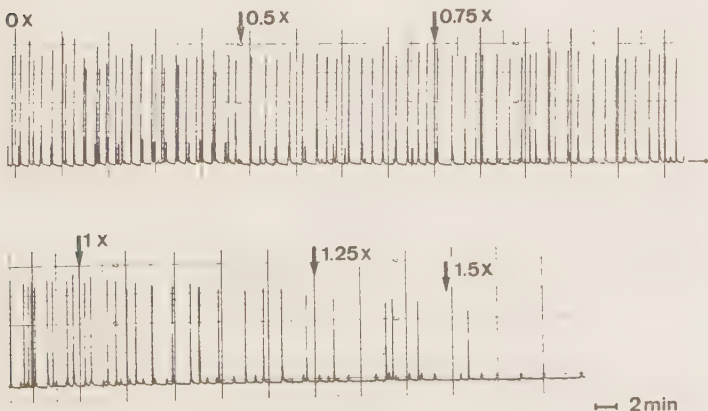
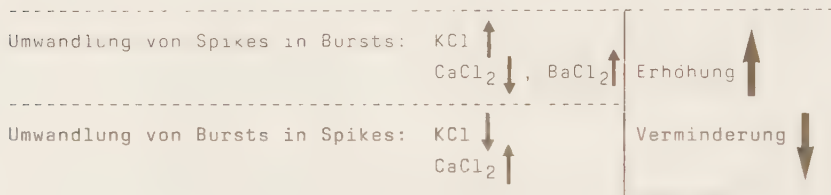


Abb. 26D: Mechanische Spontanaktivität bei schrittweiser Zugabe von MgCl_2 .

3.3. BEDEUTUNG DES KALIUM/CALCIUM-VERHÄLTNISSES FÜR DIE ELEKTRISCHE UND MECHANISCHE AKTIVITÄT DES URETERS

Zunächst soll die Hauptwirkung der absoluten Kalium- und Calciumkonzentration noch einmal zusammengefaßt werden:



Danach soll die Frage geklärt werden, ob auch die relative Kalium/Calcium-Konzentration diese Effekte hervorruft.

Zunächst wurde die absolute Konzentration sowohl von Kalium als auch von Calcium schrittweise verringert. Dabei wurde jedoch stets ein relatives $\text{K}^+/\text{Ca}^{++}$ -Verhältnis von 2:1 bzw. von 1:1 eingehalten. Wie aus Abbildung 27A ersichtlich, wird durch den Calcium-Entzug die Spikeaktivität in eine Burstaktivität umgewandelt. Das $\text{K}^+/\text{Ca}^{++}$ -Verhältnis beträgt hier 2:1 (1:0,5). Wird nun auch die Kalium-Konzentration der Inkubationslösung so weit verringert, daß erneut ein $\text{K}^+/\text{Ca}^{++}$ -Verhältnis von 1:1 (0,5:0,5) entsteht, so tritt wieder eine Spikeaktivität auf, wie sie schon anfänglich vorhanden war (Abb. 27A). Nur Frequenz und Amplitude der Aktionspotentiale haben sich verringert (vermutlich als Folge der absoluten Verminderung der beiden Ionenarten in der Lösung).

Wird nun durch Calcium-Entzug das $\text{K}^+/\text{Ca}^{++}$ -Verhältnis ins Ungleichgewicht (0,5:0,25) gebracht, so entsteht erneut eine Burstaktivität. Für die Ausbildung einer burst- bzw. spikeartigen Aktivität ist somit nicht das absolute, sondern das relative Kalium/Calcium-Verhältnis entscheidend.

Dies zeigen auch Versuche mit einer steigenden Kalium/Calcium-"Treppe" (Abb. 27B,C). Wird hier das Verhältnis durch Kalium-Zugabe ins Ungleichgewicht (2:1) gebracht, so entsteht eine Burstaktivität. Durch die ausgleichende Zufuhr von Calcium kann diese in eine Spikeaktivität zurückverwandelt werden.

Bei weiteren Untersuchungen wurde das Kalium/Calcium-Verhältnis auf geringere Werte, wie zum Beispiel 1,5:1, eingestellt (Abb. 25C). Dabei zeigte sich, daß die Umwandlung von einem Aktivitätsmuster zum anderen nur bei einem Verhältnis von 2:1 optimal eindeutig und vollständig abläuft. Ein relatives K^+/Ca^{++} -Verhältnis von 2:1 scheint also für die Umwandlung der verschiedenen Aktionsmuster entscheidend zu sein.

Einer Calcium-Zufuhr folgt immer eine leichte Membranhyperpolarisation, während eine Kalium-Zufuhr eine partielle Depolarisation bewirkt. Die Schwankungen variieren um 6 bis 9 mV.

Die Amplituden blieben nahezu konstant; sie fallen nur bei einer extrem niedrigen absoluten Kalium- und Calciumkonzentration ab.

$$KCl : CaCl_2 = 5,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l} : 2,16 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l} \hat{=} 1:1$$

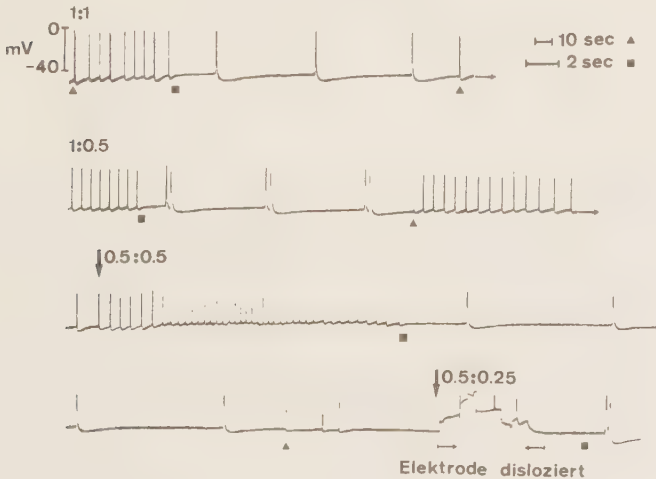


Abb. 27A: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei Veränderung des relativen Kalium/Calcium-Verhältnisses:

- Es sind die absoluten Konzentrationen von Kalium und Calcium verringert.
- Bei einem Verhältnis von 1:1 bzw. 0,5:0,5 herrscht Spikeaktivität.
- Bei einem Verhältnis von 1:0,5 bzw. 0,5:0,25 wird die Spike- in eine Burstaktivität umgewandelt.

$\text{KCl}:\text{CaCl}_2 = 5.6 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l} : 2.16 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l} \approx 1:1$

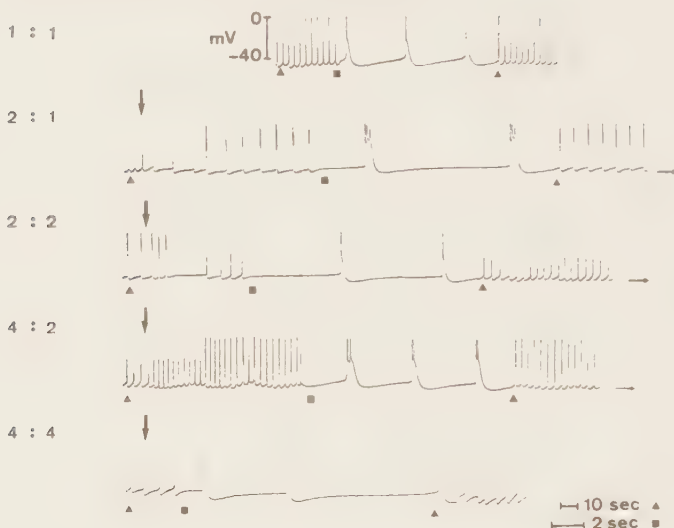


Abb. 27B: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei Veränderung des relativen Kalium/Calcium-Verhältnisses:

- Es sind die absoluten Konzentrationen von Kalium und Calcium erhöht.
- Bei einem Verhältnis von 1:1, 2:2 und 4:4 herrscht Spikeaktivität.
- Bei einem Verhältnis von 2:1 bzw. 4:2 wird die Spikeaktivität in eine Burst- bzw Doppelspikeaktivität umgewandelt.

$KCl:CaCl_2 = 5.6 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l} : 2.16 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l} \cong 1:1$

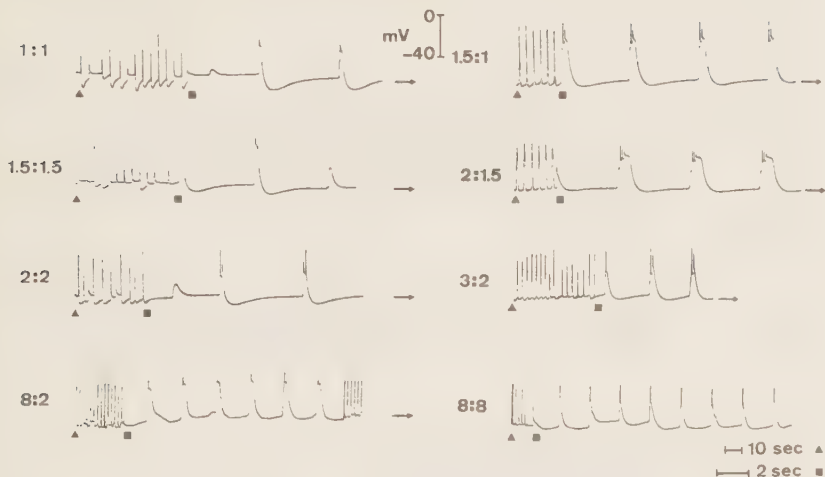


Abb. 27C: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei Veränderung des relativen Kalium/Calcium-Verhältnisses:

- Es wurde ein engeres Kalium/Calcium-Verhältnis gewählt.
- Die Umwandlung von Spikes in Bursts und von Bursts in Spikes ist nicht so eindeutig, wie bei einem 2:1 Verhältnis. Dennoch ist deutlich zu sehen, wie bei einem Ausgleich des Verhältnisses die Burstaktivität in eine spikeähnliche verwandelt wird.
- Selbst nach einer 8-fachen Erhöhung der KCl-Konzentration kann durch eine ausgleichende CaCl₂-Zugabe eine Spikeaktivität induziert werden.

TABELLE 10: Hier sind die Parameter der elektrischen Spontanaktivität bei steigender Kalium/Calcium-"Treppe" aufgeführt. Durch die Zugabe von Kalium bzw. Calcium wird die Aktionspotentialdauer besonders stark verändert. (Anfangsaktivität = 100%)

K^+/Ca^{++}	2:1	2:2
RMP	93,5% $\pm$ 9,9	98,2% $\pm$ 10,2
APF	74,0% $\pm$ 19,1	82,2% $\pm$ 35,0
AP-Dauer	234,0% $\pm$ 110	71,5% $\pm$ 33,0
Amplitude	94,7% $\pm$ 16,8	93,5% $\pm$ 12,8

K^+/Ca^{++}	4:2	4:4
RMP	90,5% $\pm$ 13,0	102,1% $\pm$ 6,1
APF	110,5% $\pm$ 36,9	43,5% $\pm$ 17,6
AP-Dauer	230,0% $\pm$ 44,3	51,5% $\pm$ 10,5
Amplitude	93,7% $\pm$ 15,2	100,3% $\pm$ 4,2

(n = 6)

Nachdem für die optimale Umwandlung der Spikeaktivität in eine Burstaktivität das Kalium/Calcium-Verhältnis von 2:1 ermittelt worden war, wurden die obigen Versuche auch zur Untersuchung der mechanischen Aktivität wiederholt.

Bei einem Verhältnis von 2:1 (bei einem Überwiegen der K^+ - Konzentration) kommt es zu einer Frequenzsteigerung. Sie kann durch das Wiederherstellen des ursprünglichen K^+/Ca^{++} -Gleichgewichtes von 2:2 wieder rückgängig gemacht werden (Abb. 27D). Die Frequenz liegt bei einem ausgeglichenen Kalium/Calcium-Verhältnis (0,5:0,5, 2:2, usw.) stets unter der Ausgangsfrequenz (1:1, Abb. 27D).

Bei fallender K^+/Ca^{++} -Treppe sinkt die Amplitude bei Kalium-Überschuß (1:0,5). Bei Verringerung der Calciumkonzentration (0,5:0,5, Abb. 27D) sinkt die Frequenz.

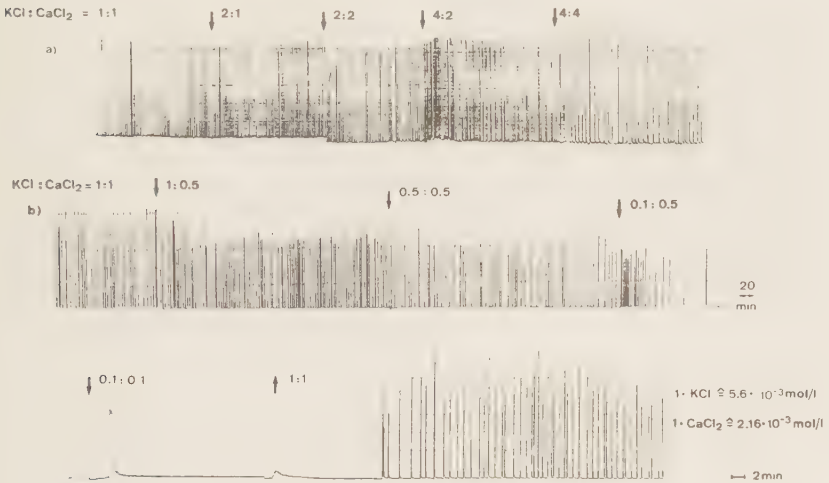


Abb. 27D: Mechanische Spontanaktivität des Pyloureters des Meerschweinchens bei verschiedenen Kalium/Calcium-Verhältnissen:

- Aufzeichnung a) zeigt eine Kalium/Calcium-Treppe mit steigenden absoluten Konzentrationen;
- Aufzeichnung b) zeigt eine Kalium/Calcium-Treppe mit fallenden absoluten Konzentrationen.
- Kalium-Überschuß führt zu einer Frequenzsteigerung.
- Bei Zugabe bzw. Entzug von $CaCl_2$ (Ausgleich des Verhältnisses) fällt die Frequenz ab.
- Bei relativer Verminderung der Calcium-Konzentration fällt die Kontraktionsamplitude ab.

TABELLE 11: Hier werden die Frequenzschwankungen bei unterschiedlichen K^+/Ca^{++} -Verhältnissen aufgeführt:

K^+/Ca^{++}	2:1	2:2
Frequenz	143,0% $\pm$ 48,7	106,2% $\pm$ 53,8
Amplitude	101,5% $\pm$ 4,6	120%

K^+/Ca^{++}	4:2	4:4
Frequenz	210,7% $\pm$ 130	67,2% $\pm$ 4,5
Amplitude	95%	107%

3.4. EINFLUSS VON Natriumchlorid AUF DIE ELEKTRISCHE UND MECHANISCHE AKTIVITÄT

Zur Untersuchung der Abhängigkeit der Spontanaktivität von der NaCl-Konzentration wurde das Organpräparat zunächst in der hyperosmotischen McEwen Lösung inkubiert, bis sich die elektrische Aktivität stabilisiert hatte. Dann wurde die Inkubationslösung mit normaler NaCl-Konzentration durch eine Lösung mit auf die Hälfte reduziertem NaCl-Gehalt und durch eine Natrium-freie Lösung ersetzt. Dieser Natriumentzug führt zu einer starken Verringerung des osmotischen Druckes. Die Verminderung wurde aber durch die Zugabe von Saccharose oder LiCl ausgeglichen wurde. Dabei wurde die Osmolarität jeweils mit dem Osmometer kontrolliert.

3.4.1. Natrium-arme Lösung: Austausch von NaCl gegen Saccharose

Die Wirkung einer verminderten NaCl-Konzentration auf die elektrische Spontanaktivität ist abhängig von der Form der Anfangsaktivität. Bei einer spikeähnlichen Anfangsaktivität verändert sich die Form selbst nicht. Dagegen steigt die Frequenz um ein Vielfaches ihres Ausgangswertes (Abb. 28A). Ist eine burstartige Anfangsaktivität vorhanden, so kann man bei einer Reduzierung der NaCl-Konzentration um 50% eine extreme Zunahme der Burstdauer (im Mittel um das 5-fache) beobachten (Abb. 28 C-D). Wird NaCl völlig aus der Lösung entfernt, so treten nach einer kurzzeitigen niederfrequenten Spikeaktivität Bursts mit einer hochfrequenten superponierten Spikeaktivität auf. Sind als Anfangsaktivität Doppelspikes vorhanden, so verlängert eine Halbierung der NaCl-Konzentration die AP-Dauer um ca. 50% (Abb. 28B). Bei völligem NaCl-Entzug ist eine hochfrequente Spikeaktivität zu beobachten. In einigen Fällen konnte durch die Zugabe von $6,5 \cdot 10^{-2}$ mol/l NaCl zur Natrium-freien Lösung die Spikeaktivität wieder in eine Burstaktivität zurückverwandelt werden.

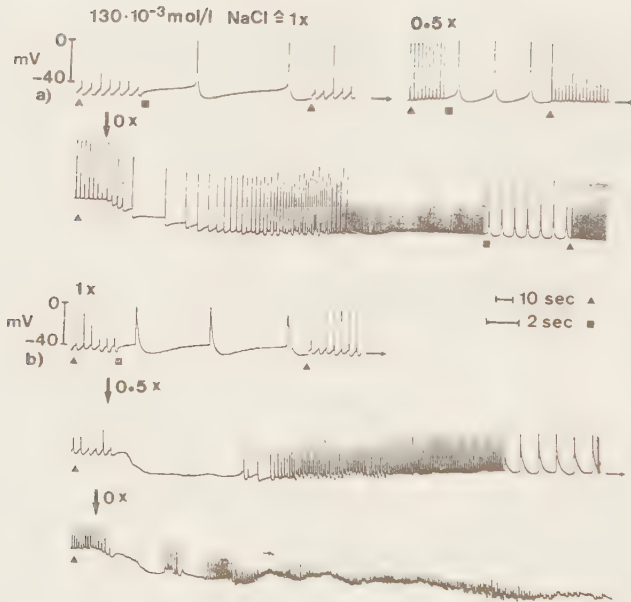


Abb. 28A: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei reduziertem NaCl-Gehalt:
(isoosmotischer Austausch von NaCl durch Saccharose)

- Es liegt eine spikeähnliche Ausgangsaktivität vor.
- NaCl-Entzug bedingt einen starken Frequenzanstieg.
- Die Form der elektrischen Aktivität bleibt nahezu unverändert.

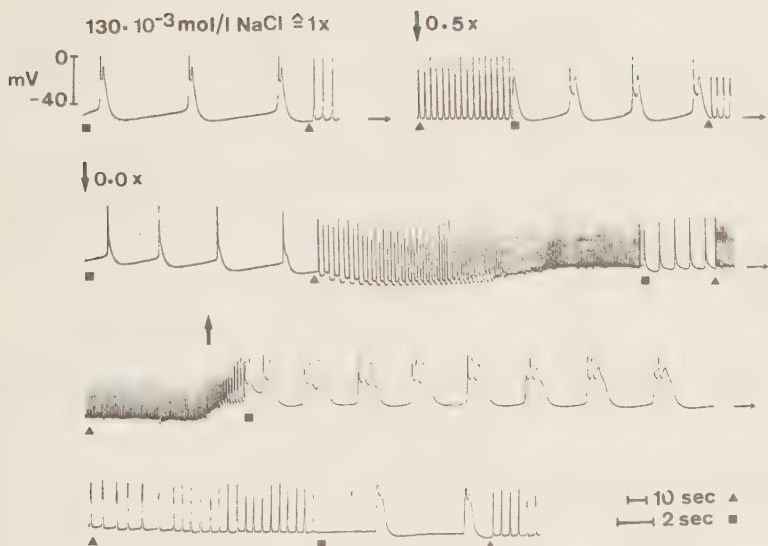


Abb. 28B: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei reduziertem NaCl-Gehalt:
 (isoosmotischer Austausch von NaCl durch Saccharose)

- Bei einer anfänglichen Doppelspikeaktivität verlängert die Halbierung des NaCl-Gehaltes die AP-Dauer.
- Völliger NaCl-Entzug läßt eine hochfrequente Spikeaktivität entstehen.
- Eine erneute NaCl-Zugabe wandelt die Spike- in eine Burstaktivität um.

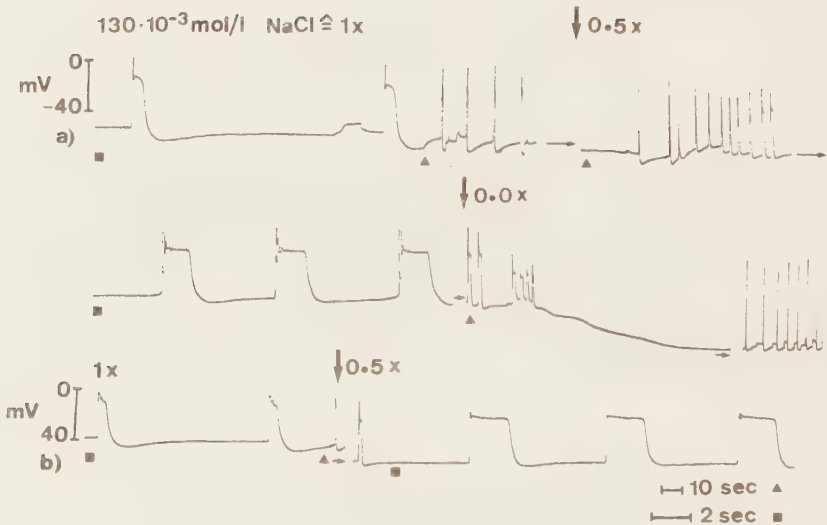


Abb. 28C: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei reduziertem NaCl-Gehalt:

(isoosmotischer Austausch von NaCl durch Saccharose)

- Es liegt eine burstartige Ausgangsaktivität vor.
- Eine Halbierung der NaCl-Konzentration ruft eine starke Verlängerung der Burstdauer hervor.
- In NaCl-freier Lösung entsteht eine Spikeaktivität.

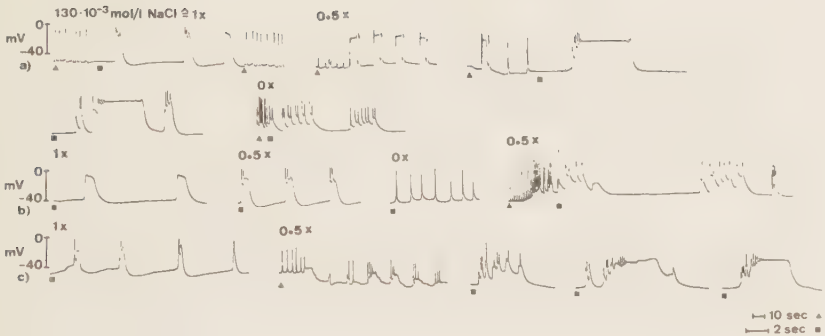


Abb. 28D: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei reduziertem NaCl-Gehalt:

- Bei allen drei Ableitungen liegt eine burstartige Ausgangsaktivität vor.
- Eine Reduzierung der NaCl-Konzentration um 50% ruft eine Burstaktivität hervor; dabei ist die Burstdauer zum Teil extrem verlängert: sie erreicht Werte von bis zu 6sec.
- In NaCl-freier Lösung ist eine Spikeaktivität oder eine Burstaktivität mit einer hochfrequenten Spikeaktivität zu beobachten.
- Bei der Ableitung b) wird durch die Zugabe von 0,5*NaCl zu der NaCl-freien Lösung die Spikeaktivität in eine Burstaktivität umgewandelt.

Die Abbildungen 28E und 28F zeigen den Einfluß einer Kalium- bzw. einer Calcium-Erhöhung auf die elektrische Aktivität in einer McEwen Lösung mit einem auf die Hälfte reduzierten Natrium-Gehalt.

Dabei zeigt sich, daß Kaliumionen und die Calciumionen eine ähnliche Wirkung wie in normaler McEwen Lösung entfalten.

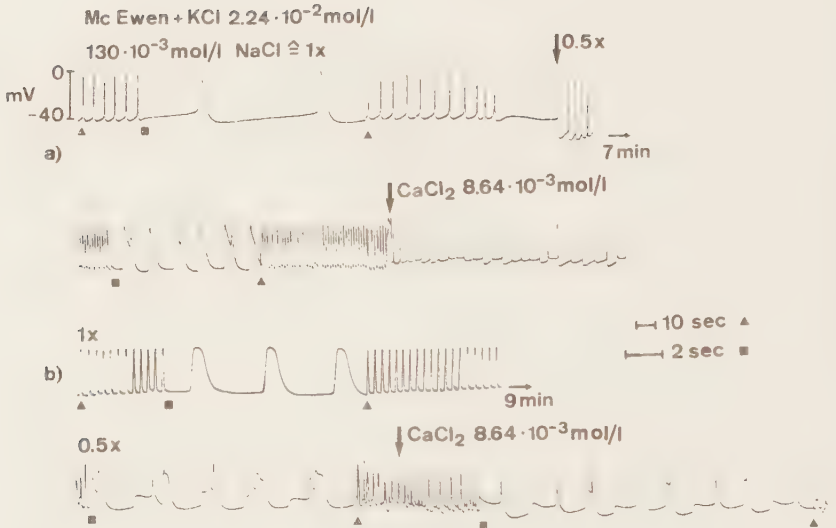


Abb. 28E: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei halbiertem NaCl-Gehalt:

- Durch den NaCl-Entzug entsteht eine Burstaktivität.
 - Die CaCl₂-Zugabe reduziert die Frequenz.
- Ferner kommt es zu einer Umwandlung der Burst- in eine Spikeaktivität. Es entstehen auch Spikes mit einer kleineren Amplitude und bei der Ableitung b) auch abortive Spikes.

Bei der Zugabe von KCl ist nicht wie in einer normalen McEwen Lösung eine signifikante Veränderung der elektrischen Aktivität zu sehen. KCl hat in einer Lösung mit vermindertem NaCl-Gehalt nur einen Einfluß auf die Frequenz.

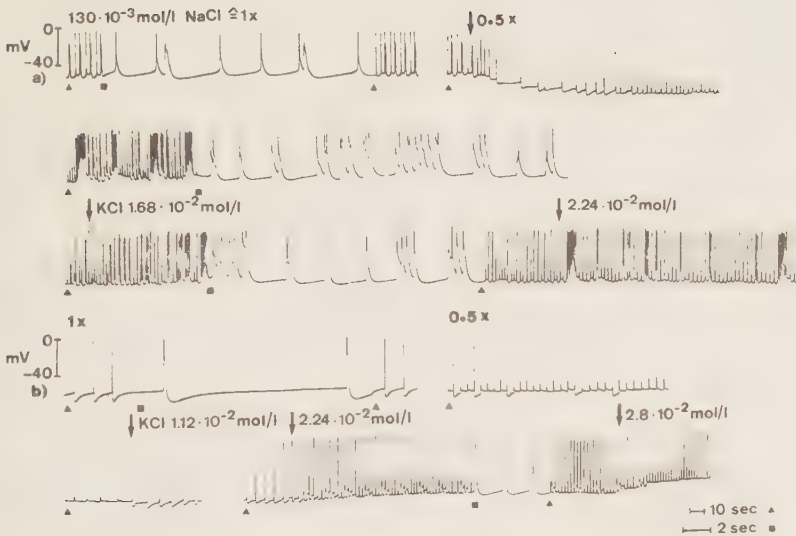


Abb. 28F: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei halbiertem NaCl-Gehalt:

- KCl erhöht die Frequenz.
- In Abbildung a) sind bei NaCl-Entzug die gleichen lang andauernden Bursts mit hochfrequenter superponierter Spikeaktivität zu sehen, wie sie zum Teil auch bei CaCl₂-Entzug auftreten (Abb. 23C).
- Abbildung b) zeigt einen Fall, bei dem bei NaCl-Entzug abortive Spikes aufgetreten sind. KCl kann jedoch die abortiven Spikes in echte Spikes umwandeln und die Frequenz steigern. Diese Abbildung zeigt auch die Depolarisation des RMP durch KCl deutlich.

TABELLE 12: Hier sind die Parameter der elektrischen Spontanaktivität in einer McEwen Lösung mit reduziertem NaCl-Gehalt aufgelistet. Die Prozentangabe bezieht sich auf die burst- bzw. spikeartige Anfangsaktivität (= 100%).

	6,5*10 ⁻² mol/l		
	NaCl		NaCl-frei

a) burstarige			
Anfangsaktivität:			
RMP	113,2% ± 12,2		155,3% ± 22,4
APF	72,1% ± 41,4		1110,3% ± 40,0
AP-Dauer	482,2% ± 150		28,5% ± 15,0
Amplitude	118,3% ± 19,4		94,0% ± 24,4
(n = 5)			

b) spikeartige			
Anfangsaktivität:			
RMP	116,7% ± 11,5		169,7% ± 29,5
APF	197,6% ± 47,4		779,2% ± 282
AP-Dauer	112,0% ± 26,8		76,4% ± 25,1
Amplitude	108,4% ± 6,5		94,6% ± 24,0
(n = 6)			

3.4.2. NATRIUM-ARME LÖSUNG: AUSTAUSCH VON NaCl GEGEN LiCl

Hier wurde zur Aufrechterhaltung des osmotischen Druckes LiCl zugegeben. In diesen Versuchen konnten die Versuchsergebnisse, die in Kapitel 3.4.1 beschrieben wurden, bestätigt werden (Abb. 29A,B). Der Effekt, den der NaCl-Entzug auf die elektrische Spontanaktivität ausübt, war bei diesen Versuchen jedoch schwächer ausgeprägt.

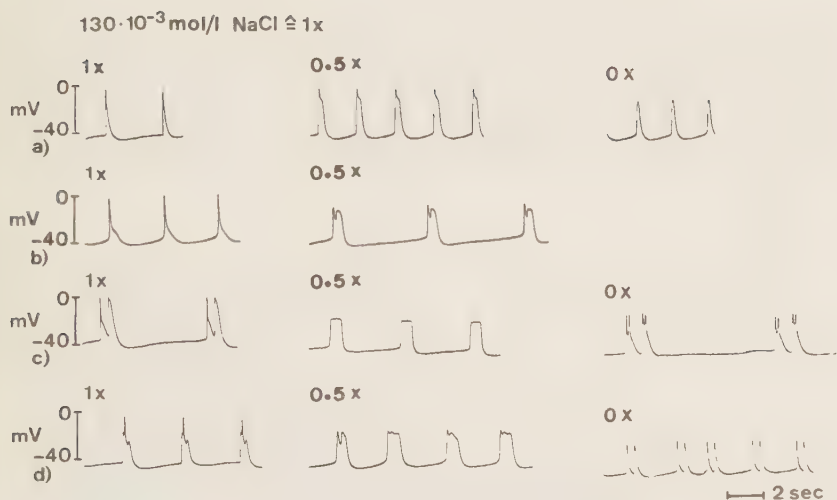


Abb. 29A: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei reduziertem NaCl-Gehalt:

- Eine Halbierung der NaCl-Konzentration verlängert die AP-Dauer und erhöht die Frequenz.
- Bei völligem NaCl-Entzug sind eine weitere Frequenzerhöhung und eine Umwandlung der Burst- in eine Spike- bzw. Doppelspikeaktivität zu sehen.

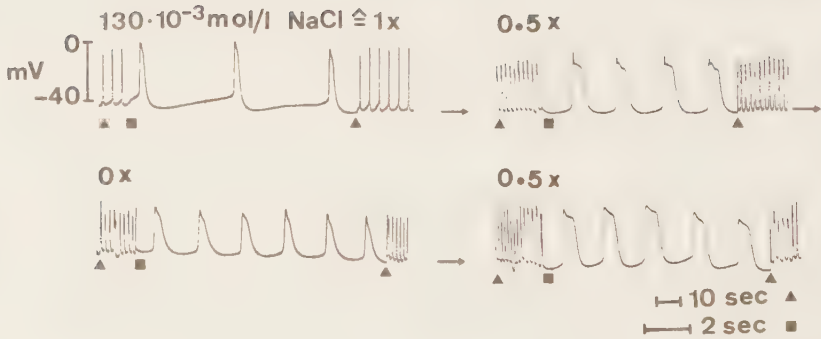


Abb. 298: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei reduziertem NaCl-Gehalt:

- Wie bereits gezeigt entsteht bei Halbierung der NaCl-Konzentration eine burstartige, in NaCl-freier Lösung eine spikeartige Aktivität.
- Dieser Effekt ist reversibel, wie die erneute Zugabe von NaCl in die NaCl-freie Lösung zeigt.

3.4.3. NATRIUMEINFLUSS AUF DIE MECHANISCHE AKTIVITÄT DES URETERS: AUSTAUSCH VON NaCl GEGEN SACCHAROSE

Zur Untersuchung der mechanischen Aktivität wurden die obigen Versuche unter den gleichen Inkubationsbedingungen wiederholt. Die Halbierung der NaCl-Konzentration bringt einen starken Frequenzanstieg und eine Verminderung der Kontraktionen mit sich (Abb. 30). Bei völligem NaCl-Entzug wird die Frequenz nahezu vervierfacht; die Amplitude sinkt weiterhin sehr schnell ab.

$\text{NaCl } 130 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l} \hat{=} 1x$

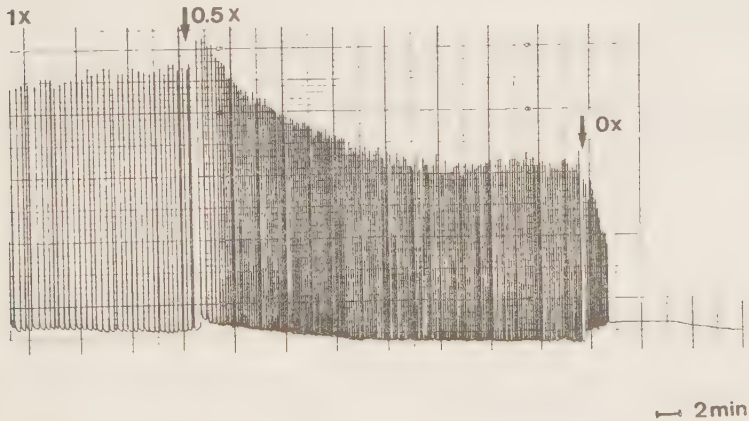


Abb. 30: Mechanische Spontanaktivität des Pyeloureters bei schrittweise reduziertem NaCl-Gehalt:

- Es ist eine Erhöhung der Frequenz und eine Verminderung der Kontraktionsamplitude zu beobachten.

4. EINFLUß VON PHARMAKA

4.1. IONAL WIRKENDE PHARMAKA

4.1.1. EINFLUß VON TETRAÄTHYLAMMONIUM (TEA)

Die Konzentration von TEA wurde schrittweise (beginnend bei einer Konzentration von 10^{-3} mol/l) bis zur völligen Blockade der elektrischen Aktivität erhöht. Die Wirkung von TEA war nahezu unabhängig von der Form der Ausgangsaktivität.

Aus den Abbildungen 31 A-C ist deutlich zu erkennen, daß TEA (zwischen einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-3}$ und $2,5 \cdot 10^{-3}$ mol/l) die unterschiedlichsten Ausgangsaktivitäten in eine burstartige Aktivität mit einer Dauer von ca. 0,65 sec umgewandelt hat. Einem Aufstrich folgt eine langsame und dann schneller abfallende Plateauphase. Die Plateauphase wird mit ansteigender TEA-Konzentration länger. Dabei nimmt die Anstiegsgeschwindigkeit bis zum völligen Erlöschen der elektrischen Aktivität ab. Die Frequenz steigt kontinuierlich mit der TEA-Zugabe (bis 10^{-2} mol/l) an, fällt danach aber ab.

Das RMP ist bei einer TEA-Konzentration von 10^{-2} mol/l um etwa 15 mV vermindert.

Die Amplitude wird bei niedrigem TEA-Gehalt zunächst erhöht, sinkt dann aber bei weiterer TEA-Zugabe wieder ab.

Die elektrische Aktivität ist ab einer TEA-Konzentration von $2 \cdot 10^{-2}$ mol/l völlig gehemmt.



Abb. 31A: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei anfänglicher Burstaktivität:

- Die anfängliche Bigemenie bei Ableitung a) wandelt sich in eine regelmäßige elektrische Aktivität um.
- Bei $4,5 \cdot 10^{-2}$ mol/l TEA sinken die Amplitude und die maximale Anstiegsgeschwindigkeit ab.
- Trotz unterschiedlicher Anfangsaktivität (Bursts und Spikes) nähern sich die elektrischen Aktivitäten nach TEA-Zugabe von $1,5 \cdot 10^{-2}$ mol/l bei a)
 $1 \cdot 10^{-2}$ mol/l bei b)
 $5 \cdot 10^{-5}$ mol/l bei Abb. 31B und 31C
 weitgehend der Form  an.

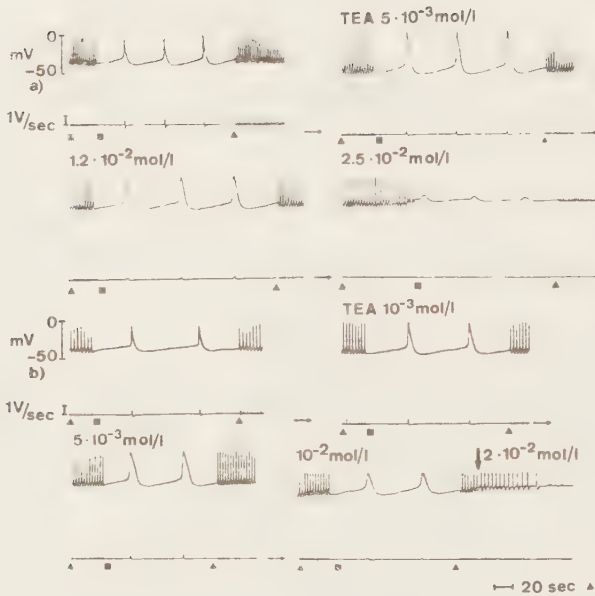


Abb. 31B: Elektrische Aktivität des Pyeloureters bei anfänglicher Spikeaktivität:

- Auch die Spikeaktivität wandelt sich bei einer TEA-Konzentration von $5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ in die bereits beschriebene Form um.
- Ab einer Konzentration von 10^{-2} mol/l sinkt die Amplitude stark ab.

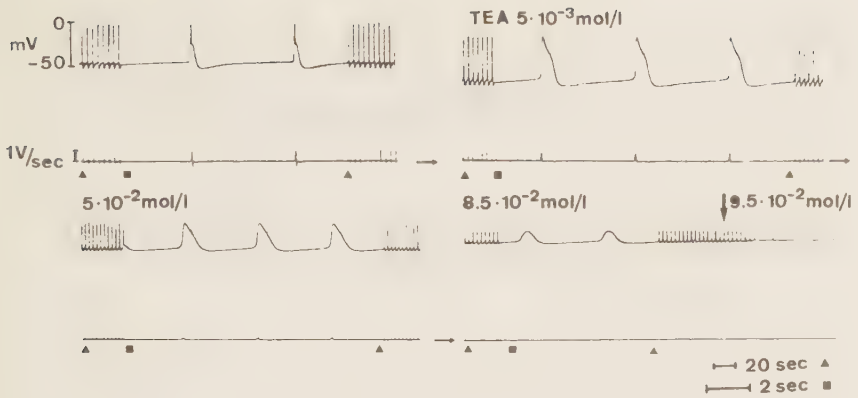


Abb. 31C: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei anfänglicher Spikeaktivität:

- Diese Abbildung zeigt die Umwandlung der Anfangsaktivität in die bereits besprochene Form ($5 \cdot 10^{-3}$ mol/l).
- Außerdem kann man die kontinuierliche Abnahme der Amplitude und die starke Verlangsamung der Anstiegsgeschwindigkeit deutlich beobachten.



TABELLE 13: Hier sind die Parameter der elektrischen Aktivität bei TEA-Zugabe aufgeführt (Ausgangsaktivität = 100%).

	$5 \cdot 10^{-3}$ mol/l TEA	10^{-2} mol/l TEA	$5 \cdot 10^{-2}$ mol/l TEA
RMP	76,6% $\pm$ 13,3	68,1% $\pm$ 14,9	49,3% $\pm$ 13,2
APF	143,3% $\pm$ 40,6	154,0% $\pm$ 46,6	142,0% $\pm$ 2,0
AP-Dauer	171,3% $\pm$ 76,7	168,3% $\pm$ 72,3	154,0% $\pm$ 30,6
Amplitude	131,1% $\pm$ 14,2	120,8% $\pm$ 26,3	75,6% $\pm$ 16,8
(n = 6)			

4.1.2. EINFLUß VON PHARMAKA MIT CALCIUM-EFFEKTEN

4.1.2.1. MANGANCHLORID

Mangan übt eine stark hemmende Wirkung auf die elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters aus (vermutlich über eine kompetitive Verdrängung von CaCl_2). Bereits bei einer Zugabe von $1,08 \cdot 10^{-3}$ mol/l, was der halben CaCl_2 Konzentration entspricht, treten abortive Spikes auf. Einige Aktionspotentiale werden völlig unterdrückt (Abb. 32) Bei dieser Konzentration deutet sich bei anfänglicher Spikeaktivität eine Plateauphase an. Wird MnCl_2 äquimolar zur CaCl_2 Konzentration zugesetzt, so kommt es sehr häufig zu einer völligen Hemmung der elektrischen Aktivität. Durch Zugabe von KCl kann diese Hemmung durchbrochen werden. In Abbildung 32 wird eine Ableitung gezeigt, bei der trotz Zugabe von $2,16 \cdot 10^{-3}$ mol/l die elektrische Aktivität noch erhalten bleibt. Deutlich ist die langsame Zunahme der AP-Dauer zu sehen, bis schließlich Bursts auftreten. Die Burstdauer erreicht Werte um 4 sec. Bei einer zusätzlichen Zugabe von KCl ($2,24 \cdot 10^{-2}$ mol/l) kann die Burstdauer noch um ca. 0,5 sec verlängert werden; die Frequenz nimmt zu; die elektrische Aktivität wird regelmäßig.

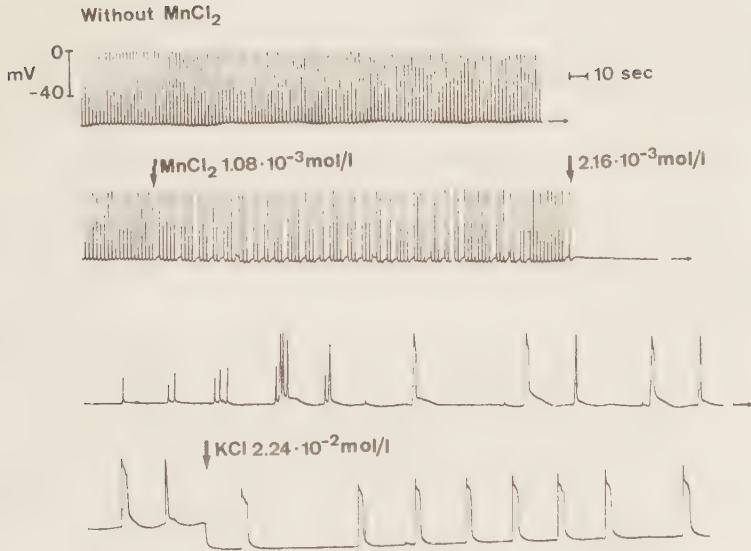


Abb. 32: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei Zugabe von MnCl_2 :

- MnCl_2 hemmt die elektrische Aktivität.
- Es kommt zu einer deutlichen Verlängerung der Burstdauer.
(Beachte den konstant langsamen Papiervorschub.)

4.1.2.2. VERAPAMIL

Nach RIEMER (118) beruht auch die Wirkung von Verapamil vermutlich auf einer kompetitiven Verdrängung von Calcium. Die Wirkung von Verapamil ist abhängig von der Ausgangsaktivität; eine spikeartige Anfangsaktivität wird nicht beeinflusst. Dagegen lassen sich bei burstartiger Aktivität Einflüsse nachweisen. So verringert sich die Burstdauer bei einer Verapamilkonzentration von 10^{-7} mol/l um etwa ein Drittel. Bei niedrigen Konzentrationen von Verapamil (10^{-9} - 10^{-8} mol/l) kommt es zu einem vorübergehenden Anstieg der Frequenz (um ca. 36%).

Einer Verapamilzugabe von mehr als 10^{-7} mol/l folgt in der Regel nach einigen Minuten eine völlige Hemmung der elektrischen Spontanaktivität.

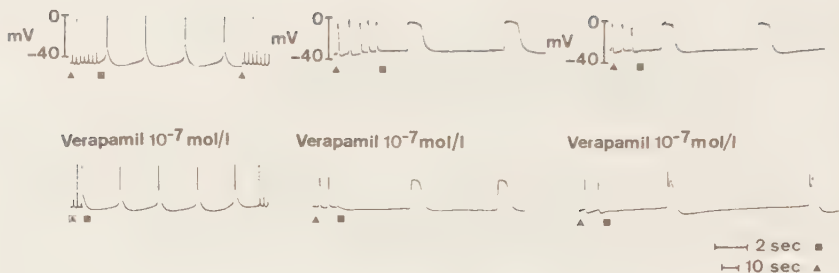


Abb. 33: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters nach Zugabe von 10^{-7} mol/l Verapamil:

- Die Ableitung links zeigt keinen Einfluß von Verapamil auf die spikeartige Anfangsaktivität.
- Die Dauer einer burstartigen Anfangsaktivität verringert sich durch Verapamilzugabe (mittlere und rechte Ableitung).

4.1.2.3. NIFEDIPIN

Die Wirkung von Nifedipin ist ähnlich der von Verapamil. Auch hier kommt es bei einer anfänglichen Burstaktivität durch die Zugabe von Nifedipin zu einer Verkürzung der Burstdauer. In einigen Fällen bringt die Zugabe von Nifedipin eine Rhythmisierung der elektrischen Aktivität mit sich, wie sie schon bei CaCl_2 -Entzug beobachtet wurde (siehe Abb. 22A).

Ab einer Nifedipinkonzentration von $7 \cdot 10^{-9}$ mol/l tritt eine Hemmung der elektrischen Aktivität ein. Dabei fallen gleichmäßige sinusförmige Schwankungen des Ruhemembranpotentials auf, deren Frequenz mit der vorhergehenden elektrischen Aktivität übereinstimmt. Hierbei könnte es sich um die von GOLENHOFEN (66) beschriebene basale organeigene Rhythmik (BOR) handeln. Die maximale Anstiegsgeschwindigkeit bleibt durch Nifedipin unbeeinflusst.

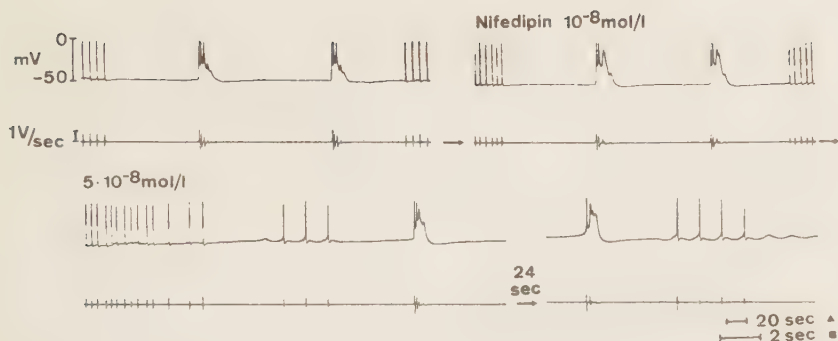


Abb. 34A: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei Zugabe von Nifedipin:

- Nifedipin verkürzt die Burstdauer.
- Es dämpft die superponierten Spikes.
- Ab einer Konzentration von $5 \cdot 10^{-8}$ mol/l wird die elektrische Aktivität zusehends gehemmt. Danach sind wellenförmige Depolarisationen des Membranpotentials zu beobachten.

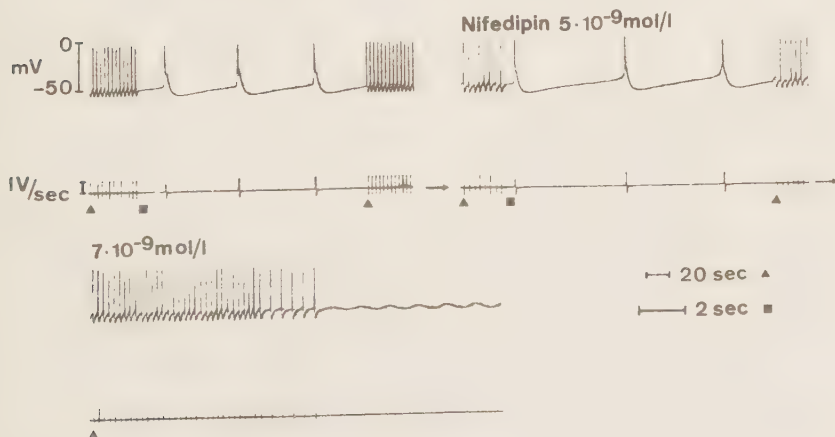


Abb. 34B: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei Zugabe von Nifedipin:

- Die spikeförmige Anfangsaktivität wird durch Nifedipin nicht verändert; lediglich die angedeutete Plateauphase der Ausgangsaktivität wird unterdrückt.
- Bei einer Nifedipinkonzentration von $7 \cdot 10^{-9}$ mol/l tritt nach der Blockade der elektrischen Spontanaktivität eine wellenförmige Depolarisation des Membranpotentials auf.

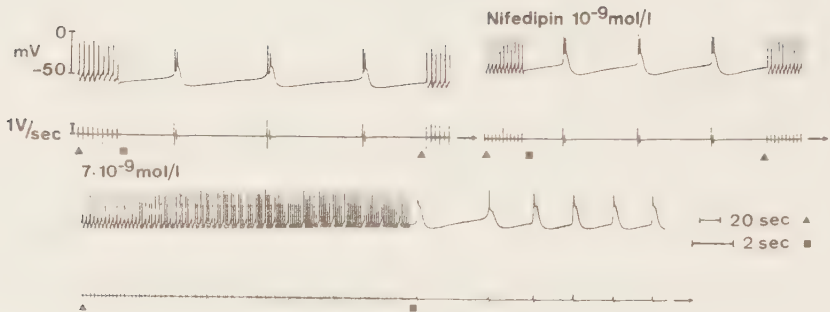


Abb. 34C: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei Zugabe von Nifedipin:

- Die Rhythmisierung der elektrischen Spontanaktivität ist durch die Zugabe von Nifedipin deutlich erkennbar.

4.1.3. EINFLUß VON PROCAIN

Procaïn hemmt den Kaliumeinstrom und den schnellen Calciumeinstrom in die Muskelzelle.

Procaïn übt, unabhängig von der Ausgangsaktivität, einen starken Effekt auf die elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters aus. So verwandelt sich eine anfängliche Spikeaktivität in eine Burstaktivität (Abb. 35 A-C). Die Dauer einer burstartigen Anfangsaktivität wird im Mittel um 50% verlängert. Dabei werden auch Extremwerte von bis zu 7 sec Burstdauer registriert. Bei einer Erhöhung der Procainkonzentration auf $3,6 \cdot 10^{-3}$ mol/l bis $1,8 \cdot 10^{-2}$ mol/l werden die superponierten Spikes der Burstaktivität durch eine stabile Plateauphase ersetzt.

Die Frequenz vervierfacht sich im Mittel durch eine Procainzugabe von $3,6 \cdot 10^{-3}$ mol/l, während die Amplitude auf 70% des Ausgangswertes absinkt. Bei einer weiteren Erhöhung der Procainkonzentration wird die Spontanaktivität zunehmend unterdrückt. Dabei fällt die maximale Anstiegsgeschwindigkeit kontinuierlich ab.

Das Ruhemembranpotential ist bei einer Procainkonzentration von $3,6 \cdot 10^{-3}$ mol/l um etwa 10 mV vermindert.

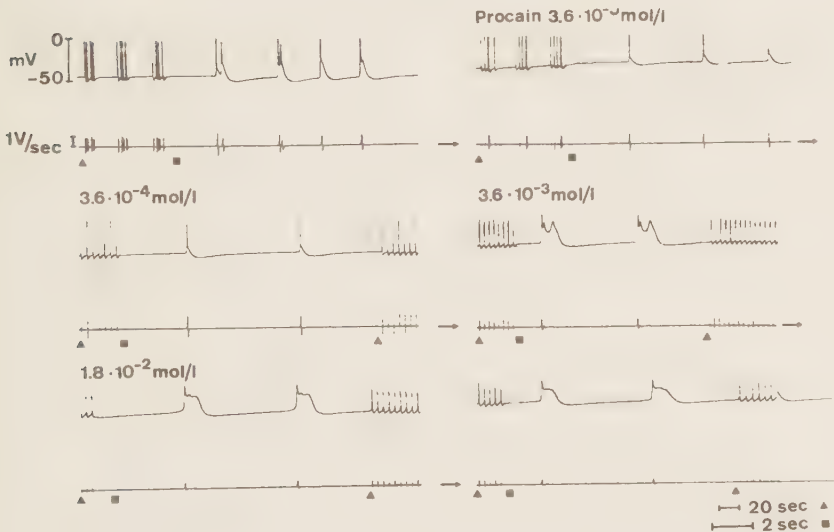


Abb. 35A: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei Zugabe von Procain:

- Die rhythmische Anfangsaktivität wird in niedriger Procainkonzentration in eine gleichmäßige Spikeaktivität umgewandelt.
- Bei einer Konzentration von $3,6 \cdot 10^{-3}$ mol/l treten Bursts auf, deren Plateauphase bei weiterer Procainzugabe zusehends stabilisiert wird.
- Die Amplitude und die maximale Anstiegsgeschwindigkeit sinken ab.

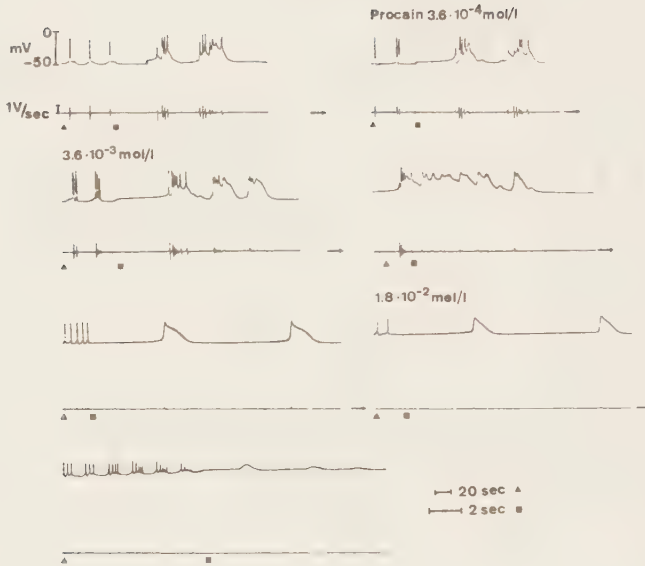


Abb. 35B: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei Zugabe von Procain:

- Die Dauer der Bursts wird bei einer Konzentration von $3,6 \cdot 10^{-3}$ mol/l extrem verlängert; es entstehen Zweier- und Dreiergruppen von Bursts.
 - Nach 6 Minuten verschwindet diese Rhythmisierung wieder und wird durch eine gleichmäßige Burstaktivität mit einer stabilen Plateauphase ersetzt.
 - Mit der Zugabe von Procain sinken die Amplitude und die maximale Anstiegsgeschwindigkeit ab.
- Kurz vor der völligen Hemmung der elektrischen Spontanaktivität tritt wieder eine Rhythmisierung der Aktivität auf.

4.2. EINFLUß VON ACETYLCHOLIN UND ATROPIN

Acetylcholin wurde bis zu einer Konzentration von 10^{-5} mol/l zugesetzt. Selbst bei dieser sehr hohen Dosis konnte kein deutlicher Acetylcholineffekt beobachtet werden (Abb. 36 A,B). Auch die Zugabe von Atropin zeigte keine Wirkung.

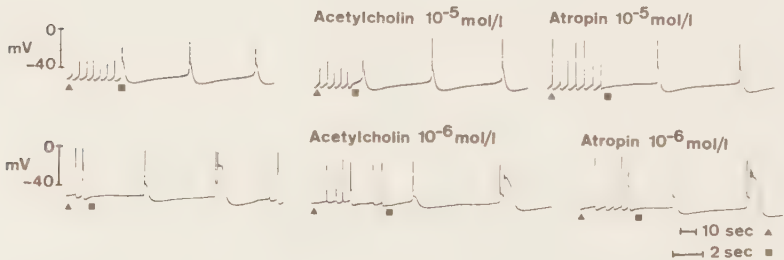


Abb. 36A: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei Acetylcholin- und Atropinzugabe:

- Weder die Zugabe von Acetylcholin noch die Zugabe von Atropin bedingen eine signifikante Formveränderung der elektrischen Aktivität (leichte Formveränderungen sind auf eine minimale Dislokation der Elektrode zurückzuführen).

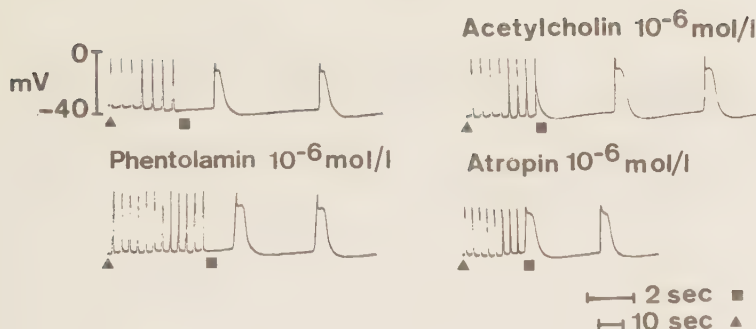


Abb. 36B: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei Acetylcholin-, Phentolamin- und Atropinzugabe:
- Keines der drei Pharmaka zeigt einen deutlichen Einfluß auf die elektrische Spontanaktivität.

4.3. SYMPATHOMIMETIKA UND SYMPATHOLYTIKA

4.3.1. EINFLUß VON ADRENALIN UND PHENTOLAMIN

Adrenalin wird bis zu einer Konzentration von 10^{-6} mol/l der Inkubationslösung zugegeben. Selbst diese sehr hohe Adrenalin-konzentration bringt keine sichtbaren Effekte (Abb. 37A,B). Die Form der elektrischen Spontanaktivität bleibt unverändert. Kleine Schwankungen sind auf externe Einflüsse zurückzuführen (Verrutschen der Elektrode).

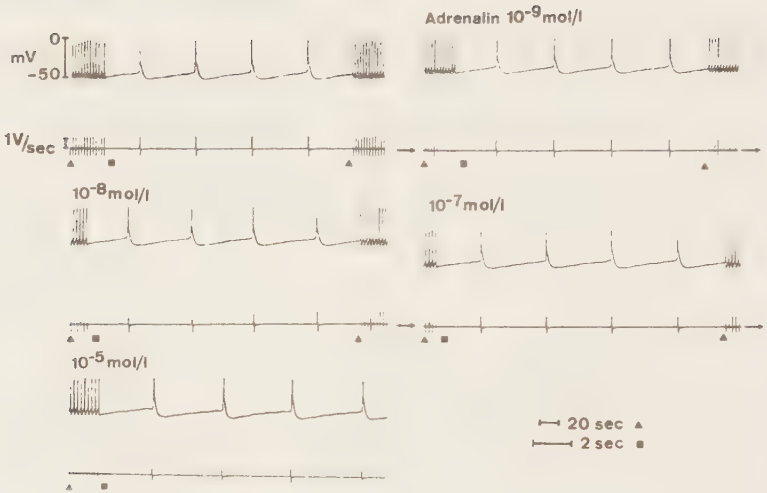


Abb. 37A: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei Zugabe von Adrenalin:

- Es ist kein Adrenalineffekt zu sehen.

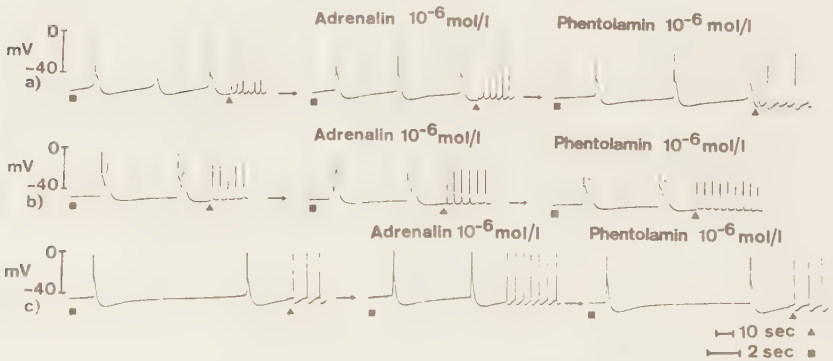


Abb. 37B: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei Zugabe von Adrenalin:

- Die elektrische Aktivität bleibt bei den Ableitungen a) und b) trotz der hohen Adrenalindosis von 10^{-6} mol/l konstant. (Die Frequenzsteigerung, die Adrenalin bei der Ableitung c) verursacht, ist während dieser Versuchsreihe nur ein einziges Mal aufgetreten.)
- Die Phentolaminzugabe hemmt die Frequenz nur bei Ableitung c).

4.3.2. DAS α -SYMPATHOMIMETIKUM PHENYLEPHRIN

Phenylephrin besitzt nahezu ausschließlich eine α -mimetische Wirkung.

Phenylephrin wandelt in der Mehrzahl der Versuche eine anfängliche Burst- oder Doppelspikeaktivität in eine spikeähnliche Aktivität um. Eine spikeähnliche Anfangsaktivität wird durch Phenylephrin nicht beeinflusst.

Die Frequenz steigt ab einer Konzentration von 10^{-7} mol/l an (Abb. 38).

Das RMP ist bei einer Phenylephrinkonzentration von 10^{-4} mol/l um 10 mV depolarisiert.

Phenylephrin übt keinen Einfluß auf die maximale Anstiegsgeschwindigkeit aus.

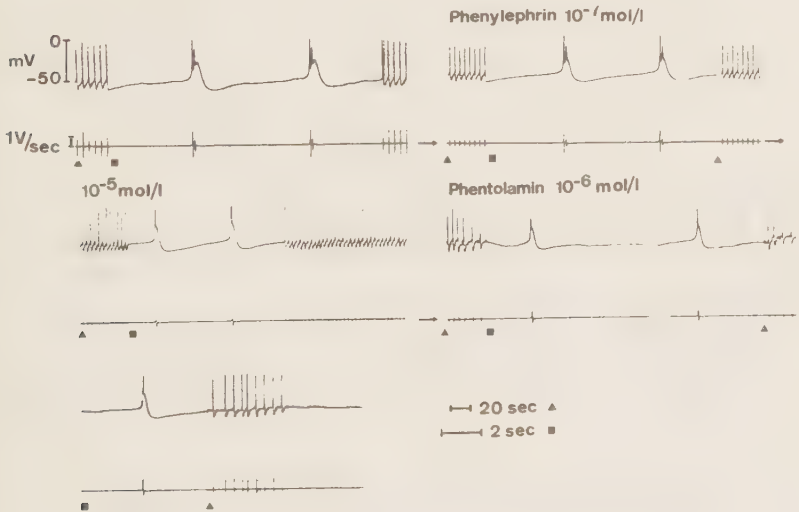


Abb. 38B: Elektrische Spontanaktivität des Pyloureters bei Zugabe von Phenylephrin und Phentolamin:

- Die burstartige Anfangsaktivität wird ab einer Konzentration von 10^{-7} mol/l in eine spikeartige Aktivität umgewandelt; dabei steigt auch die Frequenz an.
- Phentolamin hemmt die Frequenz bis zur völligen Aufhebung der elektrischen Aktivität.

4.3.3. DAS β_2 -SYMPATHOMIMETIKUM FENOTEROL

Fenoterol stimuliert spezifisch die β_2 -Rezeptoren.

Fenoterol übt bei anfänglicher Burstaktivität einen deutlichen Effekt auf die elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters aus. Die superponierten Spikes der Burstaktivität werden mit zunehmender Fenoterolkonzentration unterdrückt, und es entsteht, beginnend bei einer Konzentration von 10^{-5} mol/l, eine burstartige Aktivität mit stabiler Plateauphase (Abb. 39A,B). Niedrigere Fenoterolkonzentrationen zeigen keine Wirkung. Bei anfänglicher Spikeaktivität wird die AP-Dauer verlängert, es bildet sich eine kurze Plateauphase aus. Die Amplitude bleibt konstant.

Die Frequenz nimmt bei Fenoterolzugabe zu, fällt aber bei einer hohen Konzentration ($2 \cdot 10^{-3}$ mol/l) wieder ab.

Das RMP ist bei einer Konzentration von 10^{-3} mol/l im Mittel um 20 mV erniedrigt.

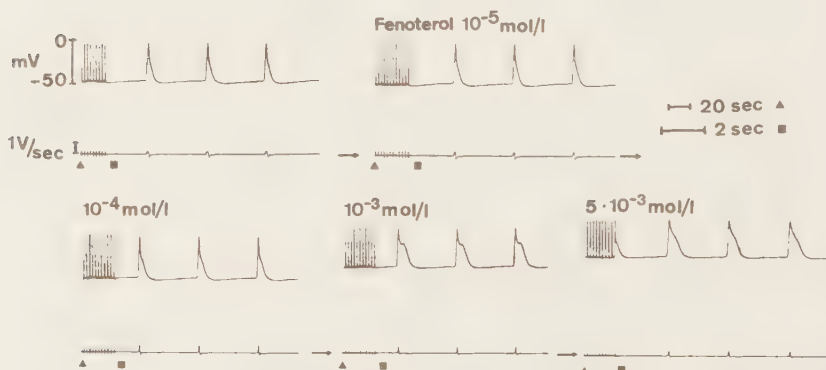


Abb. 39A: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei Zugabe von Fenoterol:

- Fenoterol bedingt eine Plateaubildung.
- Es kommt zu einer starken Depolarisation des Ruhemembranpotentials.

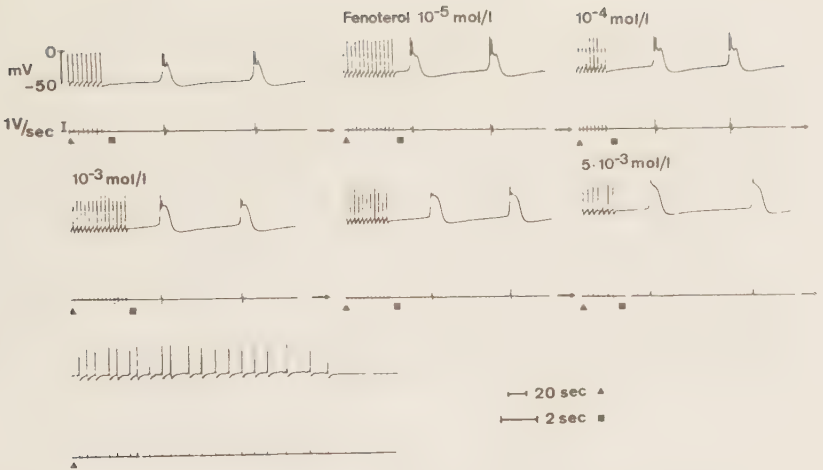


Abb. 398: Elektrische Spontanaktivität des Pyeloureters bei Zugabe von Fenoterol:

- Die superponierten Spikes der anfänglichen Burstaktivität werden durch Fenoterol gedämpft.
- Fenoterol bedingt eine Frequenzsteigerung, die aber bei der hohen Konzentration von mehr als 10^{-3} mol/l wieder bis zur völligen Unterdrückung der elektrischen Spontanaktivität abnimmt.

Mit dem β -Blocker Propranolol konnte die Wirkung von Fenoterol nicht aufgehoben werden. Propranolol hemmt bei einer Konzentration von 10^{-5} mol/l die elektrische Spontanaktivität.

6. ZUR INTRAZELLULÄREN ABLEITUNG VON AKTIONSPOTENTIALEN AUS GLATTMUSKELZELLEN DES MENSCHLICHEN PYELONS UND URETERS

Da beim menschlichen Ureter völlig andere Größenverhältnisse als beim Meerschweinchen vorliegen, kann die für die Versuche mit isolierten Organen entwickelte Methode nicht unmittelbar übernommen werden. Hier können nur kleine Streifen (7-20 mm lang) verwendet werden. Die glatten Muskelbündel des Ureters sind nach GOSLING (68) durch viel Bindegewebe voneinander getrennt. Dies ist die Ursache für

für das häufige Abbrechen der feinen Elektrodenspitze. Auch ein Hängenbleiben der Elektrodenspitze in der Adventitia muß angenommen werden. Deshalb wurde bei der Präparation versucht, die Organpräparate der Ureter- und Nierenbeckenwandung möglichst vollständig von der umgebenden Adventitia zu befreien. Außerdem mußte das Humanpräparat fester als das Meerschweinchenpräparat mit Platinstiften auf den Wachsplättchen befestigt werden. Mit Hilfe dieser abgewandelten Präparations- und Versuchstechnik gelangen dann in Zusammenarbeit mit GREIMEL-GRINDLER und MICHAILOV (104, 110, 115) einige Ableitungen der elektrischen Spontanaktivität vom menschlichen Nierenbecken und Harnleiter (Abb. 40).

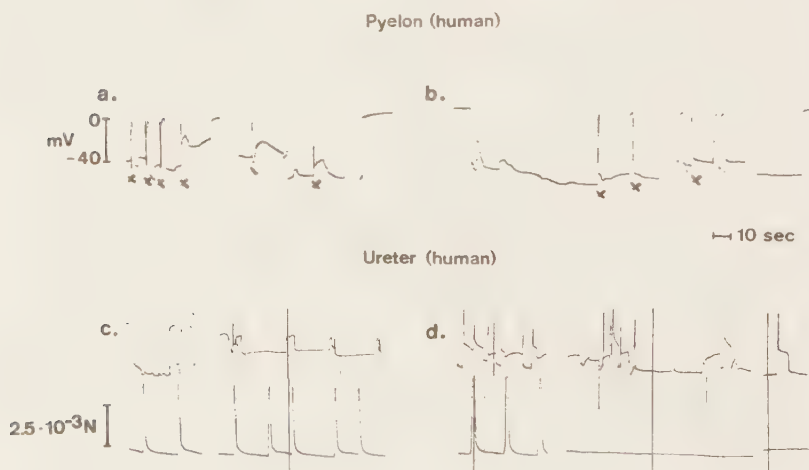


Abb. 40: Elektrische und mechanische Aktivität des menschlichen Nierenbeckens und Harnleiters:

- Die Abbildung a. und b. zeigen elektrische Spontanaktivitäten des menschlichen Nierenbeckens (x).
- Die Abbildungen c. und d. zeigen elektrische Spontanaktivitäten des menschlichen Ureters bei gleichzeitiger Registrierung der mechanischen Aktivität. Die Kontraktionen erfolgen zum Teil synchron zu der elektrischen Aktivität.
- Das unruhige Ruhemembranpotential aller vier Registrierungen macht deutlich, wie schwierig es ist, die Elektroden wenigstens über eine kurze Zeit exakt in einer menschlichen Muskelzelle zu positionieren.

V. D I S K U S S I O N

Zunächst sollen die Vor- und Nachteile der geläufigen extra- und intrazellulären Methoden aufgeführt und besprochen werden:

I. Extrazelluläre Methoden:

a) Metall- und Wickelelektroden (HRYNCZUK, 76)

b) Pressure electrodes

BURNSTOCK u. STRAUB (29) und BARTOFF (9) beschrieben diese Technik; mit Tyrode gefüllte Kapillaren werden an das betreffende Gewebe angepreßt.

c) Saccharose-Trennwand Technik

Die elektrischen Parameter werden mit zwei Elektroden abgeleitet. Dabei befindet sich eine Elektrode in einem behandelten und eine in einem unbehandelten Abschnitt des Organpräparates. Der Bereich zwischen den beiden Elektroden wird mit Saccharoselösung umspült, die auf Grund ihres hohen Widerstandes einen Kurzschluß zwischen den beiden Elektroden verhindert (BURNSTOCK, 29, BERGER, 13). Diese Methode wurde von BENNETT (12), BOEV (14), KÖLLING (89) und KUWAHARA (96) verbessert. Autoren wie KÖLLING (89) und JOHANNSON u. SOMLYO (80) beschreiben jedoch auch einige Möglichkeiten der Artefaktbildung bei dieser Technik:

- 1) Spontane Bewegungen des Präparates verursachen Kurzschlußströme.
- 2) Die Trennung zwischen den verschiedenen Abschnitten ist oft sehr schlecht.
- 3) Das Gewebe wird häufig beim Anbringen der Trennwände verletzt.

Die gemessenen Werte der elektrischen Aktivität sind nicht exakt und nicht absolut. So werden das Membranpotential und die Amplitude im Vergleich zur intrazellulären Ableitung zu niedrig gemessen; die Empfindlichkeit ist geringer.

Da die extrazellulären Methoden einen geringeren technischen Aufwand erfordern und auch leicht in vivo angewendet werden können, werden sie trotz dieser Nachteile von vielen Autoren zu ihren Untersuchungen herangezogen.

II. Intrazelluläre Methoden:

a) Ableitung mit einer Elektrode:

Hier wird eine hochohmige Glaselektrode in eine glatte Muskelzelle eingestochen, um die elektrischen Potentiale gegen eine Bezugselektrode im Extrazellulärraum abzugreifen. BÜLBRING u. HOOTEN (25) entwickelten diese Methode im Jahre 1954. Nach JOHANNSSON u. SOMLYO (80) liefert nur diese Methode verlässliche absolute Werte. BURNSTOCK et al. (31) beschreiben jedoch auch bei dieser Technik viele Möglichkeiten der Artefaktbildung und technische Schwierigkeiten bei der Anwendung intrazellulärer Elektroden:

- 1) Die Elektroden müssen der Zelle gegenüber chemisch indifferent sein (Glas).
- 2) Die Elektrodenspitze muß möglichst dünn sein, um die Zelle wenig zu verletzen und transmembranäre Ströme zu verhindern; dabei sollte sie jedoch widerstandsfähig genug bleiben, um beim Anstechen des Gewebes nicht abzubrechen.
- 3) An hochohmigen Elektroden treten "tip-potentials" (negative Potentiale von bis zu 100 mV) auf.
- 4) Der Einstich der Elektrode in die Zelle kann nicht visuell kontrolliert werden.

Wie RIEMER et al. (119) vorschlugen, wurden nur Elektroden mit einem "reduced tip-potential" von weniger als -5mV verwendet.

Diese Methode wurde in den letzten Jahren von MICHAILOV (102), KÖLLING (89), ERNST (52) und GORMANNS (67) verbessert. Nach Kölling (88) macht es nur diese intrazelluläre Meßtechnik möglich, das Membranpotential und seine langsamen und raschen Veränderungen absolut zu bestimmen. Damit ist sie allen extrazellulären Meßmethoden, die nur eine Registrierung relativer Werte erlauben, überlegen.

b) Ableitung mit zwei Elektroden:

Bei dieser "Voltage-Clamp Technik" werden zwei Elektroden in die gleiche Zelle eingestochen. Die eine dient der Messung der Membranspannung, mit der anderen wird Strom zugeführt. Jedem Strom, der durch die Zelle fließt, wird durch eine spezielle Meßanordnung ein entsprechender Klemm-

strom entgegengesetzt. Die Auswertung dieser Klemmströme ergibt ein Bild über transmembranäre Ionenströme. Die Größe der glatten Muskelzelle macht es jedoch unmöglich, gleichzeitig zwei Elektroden in der gleichen Zelle zu positionieren. Deshalb begann man die Voltage-Clamp Technik mit der Saccharose-Trennwandtechnik zu kombinieren (SHUBA, 128, BOLTON et al., 17).

Die maximale Anstiegsgeschwindigkeit des elektrischen Signals kann nicht, wie von GORMANN (67) und ERNST (52) beschrieben, mit einem RC-Glied (siehe S. 31, 32) absolut bestimmt werden. Es differenziert nicht eine konstante Strecke der maximalen, fast linear ansteigenden Depolarisation. In die Größe dV/dt geht deshalb nicht nur die maximale Anstiegsgeschwindigkeit, sondern auch die Höhe der Amplitude des Signals mit ein. Das RC-Glied ist jedoch gut dazu geeignet, innerhalb eines Versuchs die relativen Änderungen der Steigungsgeschwindigkeit festzuhalten.

Die obigen Überlegungen führten zu dem Entschluß, für die vorliegende Versuchsreihe die intrazelluläre Meßtechnik und für die Differenzierung ein RC-Glied zu wählen. Da nur sehr wenige intrazelluläre Messungen am Ureter vorliegen, können den eigenen Messungen nur bedingt vergleichbare Befunde anderer Autoren gegenübergestellt werden.

Als Grundmodell diente die Methode der "partiellen Fixierung" nach GOLENHOFEN u. LOH (62), die es erlaubt, gleichzeitig die elektrische und die mechanische Aktivität aufzuzeichnen. Dabei ist aber zu beachten, daß nur die elektrische Aktivität einer einzigen Muskelzelle abgeleitet wird, während die Kraftentwicklung die Folge einer Erregung mehrerer Muskelzellen des Gesamtpräparates ist.

Die im Kapitel "Methodik" (siehe S. 25ff) beschriebene, neu entwickelte Fixierungsmethode erlaubt es, den Pyeloureter zu fixieren, ohne dabei das Präparat stark vorzuschädigen. Ferner gewährleistet sie eine gleichmäßige Umspülung des Präparates. Bei einer durch die Saccharosezugabe stark reduzierten mechanischen Aktivität können in Einzelfällen die elektrische und mechanische Spontanaktivität synchron registriert werden. Um die Mikroelektrode über längere Zeit optimal in einer

Muskelzelle positionieren zu können, mußte die elektromechanische Kopplung durch die Zugabe von 17,5% Saccharose jedoch völlig unterdrückt werden.

Die starke Erhöhung der Saccharose hatte, wie bei den Untersuchungen von SCHWARZ-SØRENSEN (124), keinen Einfluß auf den Tonus der Uretermuskulatur. Vermutlich handelt es sich hier um eine Anpassung des Ureters an wechselnde Osmolaritäten des Harns. Die hohe Saccharosezugabe verändert aber einige Parameter der elektrischen Aktivität. So stimmen die in der vorliegenden Versuchsreihe ermittelten Werte von -46 mV für das Ruhemembranpotential und 44 mV für die Amplitude nicht mit denen überein, die andere Autoren in isoosmotischen Lösungen registrierten. KURIYAMA (93) gibt für das RMP einen Wert von 50-65 mV und für die Amplitude einen Wert von 70-75 mV an. OSHIMA (113) zeigte jedoch in seinen Versuchen, daß das Membranpotential des Ureters linear mit der Zunahme der Osmolarität depolarisiert wird; in einer Krebslösung mit 15% Saccharose war das Membranpotential um 13 mV erniedrigt und die Amplitude vermindert.

Bei der Präparation wurde das Nierenbecken im Verband mit dem Ureter entnommen, da HANNAPPEL (69) und CASTEELS et al. (34) nur so die Spontanaktivität des Ureters erhalten konnten. In den vorliegenden Vorversuchen war zwar auch am isolierten Ureter ohne Nierenbecken eine Spontanaktivität zu beobachten, diese trat jedoch später und verzögert auf. Dies deutet darauf hin, daß im Nierenbecken vermutlich ein Reizbildungszentrum vorhanden ist. Da aber auch am isolierten Ureter ohne Nierenbecken sowohl die mechanische als auch die elektrische Spontanaktivität erhalten blieb, kann angenommen werden, daß sich auch im Ureter Schrittmacherzentren befinden, die denen des Nierenbeckens aber untergeordnet sind. Damit ist jedoch noch nicht geklärt, ob nur einzelne oder ob alle Glattmuskelzellen als Schrittmacher fungieren können.

Diese Unterordnung der Eigenerregung des Ureters unter das primäre Reizbildungszentrum im Nierenbecken scheinen auch Versuche zu belegen, bei denen die mechanische Spontanaktivität des Nierenbeckens mit der des Ureters verglichen wurde. Dabei zeigten sämtliche Organpräparate der oberen Harnwege, unabhängig vom

Ort ihrer Entnahme, ähnliche Kontraktionsmuster (Abb. 9-12):

- gleichmäßige- gleichstarke Spontankontraktionen
- gleichmäßige- ungleichstarke Spontankontraktionen
- ungleichmäßige- ungleichstarke Spontankontraktionen
- burstartige, hochfrequente Kontraktionsphasen, die durch längere Ruhephasen oder durch niederfrequente Einzelkontraktionen voneinander getrennt werden.

Diese Beobachtung stimmt nicht mit den Angaben von LUTZEYER u. HANNAPPEL (99) überein, die einen direkten Bezug zwischen der mechanischen Spontanaktivität und dem Ort der Ableitung herstellen konnten (Abb. 41):

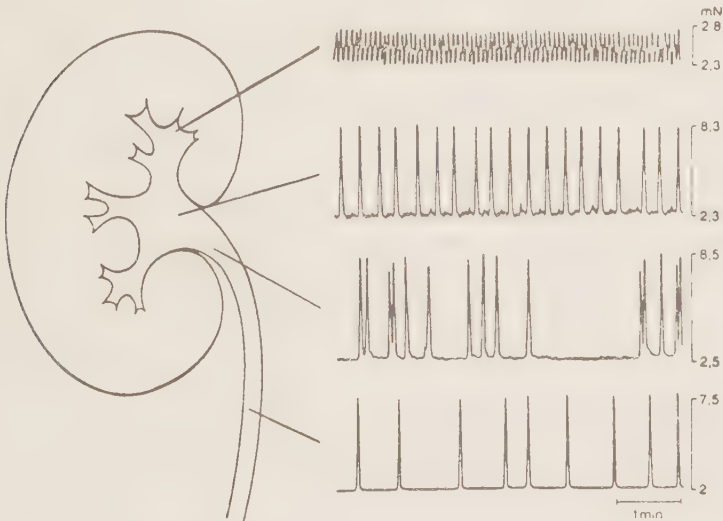


Abb. 41: Spontanaktivität von Muskelstreifen aus dem menschlichen Pyeloureter:

- Die verschiedenen Kontraktionsmuster sind direkt einem bestimmten Bereich des Pyeloureters zuzuordnen.
- Die Frequenz nimmt von proximal nach distal ab.
(LUTZEYER u. HANNAPPEL, 99)

Den Frequenzabfall von proximal nach distal (Abb. 41) führte LUTZEYER (99) auf eine Art Filterwirkung des Übergangs Nierenbecken / Harnleiter zurück. In den vorliegenden Versuchsreihen (Abb. 9-12) war jedoch ein Frequenzabfall vom Nierenbecken zum Harnleiter zu beobachten, obwohl hier nur isolierte Organstückchen des Pyelons bzw. des Ureters verwendet wurden. Ohne das Nierenbecken und ohne die Filterwirkung des Übergangs Nierenbecken / Harnleiter ist die Frequenz des Ureters niedriger als die des Pyelons. Anscheinend sind, wie auch ZAWALINSKI (143) und CONSTANTINOU (41) vermuteten, die sekundären Reizbildungszentren des Ureters niederfrequenter als die primären des Nierenbeckens. CONSTANTINOU (41) spricht von einer unidirektionalen Erregungswelle von hochfrequenten, treibenden Oszillatoren hin zu niederfrequenten Erregungszentren des distalen Ureters. Die Erregungsfortleitung scheint hier ähnlich wie am Herzen abzulaufen.

Die spontane Eigenaktivität der Muskulatur des Ureters könnte mithelfen, den vesicoureteralen Reflux mit Antiperistaltik zu erklären. Der aus der Blase zurückfließende oder zurückgestaute Urin übt auf die sekundären Erregungszentren im Bereich des distalen Ureter einen Dehnungsreiz aus, worauf sich eine hochfrequente Spontanaktivität entwickelt. Diese erregt den Ureter retrograd von distal nach proximal. BÜLBRING (22) konnte auch an der *T. coli* allein durch die Erhöhung der Vorbelastung einen Frequenzanstieg von bis zu 350% auslösen. An der Stelle, wo die retrograde Erregungswelle mit der physiologischen aus dem Nierenbecken zusammentrifft, bildet sich ein Interferenzknoten (ALBRECHT, 3). Dies verursacht eine funktionelle Stenose des Harnleiters (LUTZEYER u. MELCHIOR, 100).

Auch die elektrischen Ableitungen aus Glattmuskelzellen des proximalen Ureters weisen auf eine autonome, spontane Reizbildung im Bereich des Ureters hin. Wie Abbildung 17 zeigt, konnten im Bereich des proximalen Ureters unterschiedliche elektrische Aktivitäten nachgewiesen werden. Dabei konnte jedoch nicht, wie von GOLENHOFEN (65) und ZAWALINSKI (143) beschrieben, eine Beziehung zwischen dem Muster der elektrischen Aktivität und dem Ort der Ableitung nachgewiesen werden (Abb. 42).

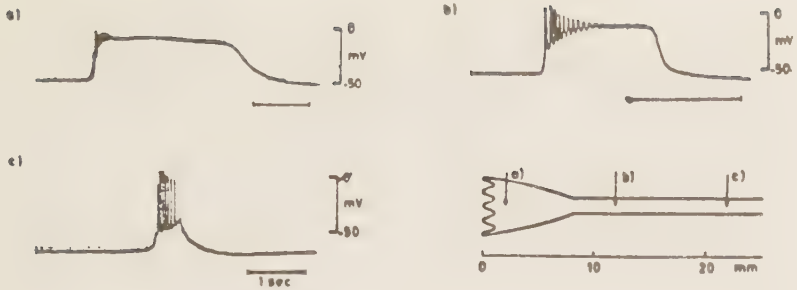


Abb. 42: Aktionspotentiale, die in verschiedenen Bereichen des Meerschweinchenureters intrazellulär abgeleitet wurden. (GOLENHOFEN, 65)

Die Muskelzellen des proximalen Ureters zeigten verschiedene burstartige Aktivitäten (Abb. 17 e-r). Dabei wurden auch die von GOLENHOFEN (65) beschriebenen Aktivitätsmuster gefunden. Darüber hinaus traten auch spikeartige Aktivitäten auf, wie sie BURNSTOCK (30) nur einmal im Jahre 1960 beobachtete. In der Literatur wurden jedoch in den letzten 24 Jahren nur noch burstartige Aktivitäten beschrieben. Dabei wurde immer eine lange Plateauphase mit anfänglich hochfrequenten superponierten Spikes als typisch angeführt (Abb. 42b). MICHAÏLOV (102) wies in seinen letzten Veröffentlichungen gleichfalls auf eine Spike- und eine Burstaktivität der Harnblasenmuskulatur des Menschen und des Meerschweinchens hin.

Um Einflüsse der elektrischen Aktivität auf die Mechanik zu beobachten, wurde die elektrische Aktivität synchron zu der durch Saccharose gedämpften mechanischen Aktivität aufgezeichnet (Abb. 13-15). Dabei schien die Stärke der Kontraktionen von der Form der elektrischen Aktivität abhängig zu sein. Eine burstartige Aktivität rief eine Kontraktion hervor, während eine spikeartige keinen oder nur einen sehr geringen Einfluß auf die mechanische Spontanaktivität ausübte (Abb. 13a u. 15b). Eine genaue Beurteilung wurde dadurch erschwert, daß die mechanische Aktivität aus der Erregung des Gesamtpräparates resultiert, während die elektrische Aktivität nur aus einer einzelnen Muskelzelle abgeleitet wird. GOLENHOFEN u. LOH (62) sprechen von

einer "relativen Korrelation" zwischen der elektrischen und mechanischen Aktivität, was eine asynchrone Aufzeichnung der elektrischen und der mechanischen Aktivität erklärt (Abb. 14a). Die elektrische Aktivität einer einzelnen Muskelzelle ist also nicht mit den Erregungszustand des Gesamtpräparates gleichzusetzen. SHUBA (128) vertritt die Ansicht, daß die Spikekomponente der elektrischen Aktivität die Kontraktion auslöst, während die langsame Komponente (Plateauphase) die Kontraktion nur moduliert. Eine Verlängerung der Plateauphase soll eine Verstärkung und Verlängerung der phasischen Kontraktion bewirken (SHUBA, 125-128). Dabei geht er von einer burstartigen Aktivität des Ureters aus. Wie in den vorliegenden Versuchen gezeigt wurde, kann angenommen werden, daß die Spikeaktivität alleine vermutlich nicht in der Lage ist eine Kontraktion auszulösen. Vielmehr scheint die Umwandlung der Spike- in eine Burstartivität mit Plateauphase für die Auslösung und Verstärkung der mechanischen Kontraktion verantwortlich zu sein. Möglicherweise handelt es sich bei der Spikeaktivität um eine Art Grundaktivität bzw. Grundoszillation der Muskelzellen, wie sie von CONSTANTINOU (41) und HANNAPPEL (72) für das Nierenbecken beschrieben wurde.

Die quantitative Auswertung der elektrischen Aktivität ergab für die maximale Anstiegsgeschwindigkeit einen Mittelwert von etwa 0,9 V/sec. Wie auch OSHIMA (113) und KUWAHARA (96) beobachteten, ist die Anstiegsgeschwindigkeit im Bereich des Ureters niedriger als bei anderen glattmuskulären Organen (24 V/sec an der T. coli; KURIYAMA, 93).

Wie oben bereits besprochen, weicht der Mittelwert des Ruhemembranpotentials (-46 mV) und der Amplitude (44mV) vermutlich auf Grund der Saccharosezugabe von den in der Literatur angegebenen Werten ab. Auch die Vorbelastung des Ureters im Organbad könnte dabei eine zusätzliche Rolle gespielt haben. BÜLBRING (22) beobachtete nämlich bei einer erhöhten Vorbelastung an der T. coli eine Hyperpolarisation des Membranpotentials. In der vorliegenden Versuchsreihe wurde das Präparat nur unter einer sehr geringen Vorspannung auf seine in-situ Länge vorgedehnt. Dies könnte die starke Membranpolarisierung, wie sie von anderen Autoren beobachtet wurde, verhindert haben.

Die Inkubationstemperatur wurde konstant bei $37,5^{\circ}\text{C}$ gehalten. Diese Temperatur liegt im physiologischen Temperaturbereich des Meerschweinchens (GABRISCH, 58). Der untere Grenzwert wurde gewählt, um den Stoffwechsel des Ureters auf einem möglichst niedrigen, aber doch noch physiologischen Niveau zu halten. Damit sollte die Versuchsdauer verlängert werden; HANNAPPEL (72) und GOLENHOFEN (64) wählten wahrscheinlich aus diesem Grund die unphysiologisch niedrige Temperatur von 35°C . Wie Abbildung 7 jedoch zeigt, übt dieser Temperaturunterschied von $2,5^{\circ}\text{C}$ bereits einen Einfluß auf die elektrische Spontanaktivität aus.

Wie schon im Kapitel "Zur ionalen Basis der Aktionspotentiale" (siehe S. 10) besprochen, spielt der chronologische Ablauf der einzelnen Ionenströme eine entscheidende Rolle für die Entstehung und den Ablauf eines Aktionspotentials. Variiert man das Außenmedium oder blockiert selektiv bestimmte Ionenkanäle, so kann man die Anteile der einzelnen Ionenströme am Gesamtstrom I in Abhängigkeit von der Zeit beobachten. SHUBA (128) und andere Autoren, die von einer burstartigen Aktivität des Ureters ausgehen, teilten den Ablauf eines Aktionspotentials an der Uretermuskulatur, wie aus Abbildung 43 ersichtlich, in mehrere Phasen ein. Diese Einteilung erweist sich für die nachfolgende Erläuterung der Ionenströme als durchaus hilfreich.

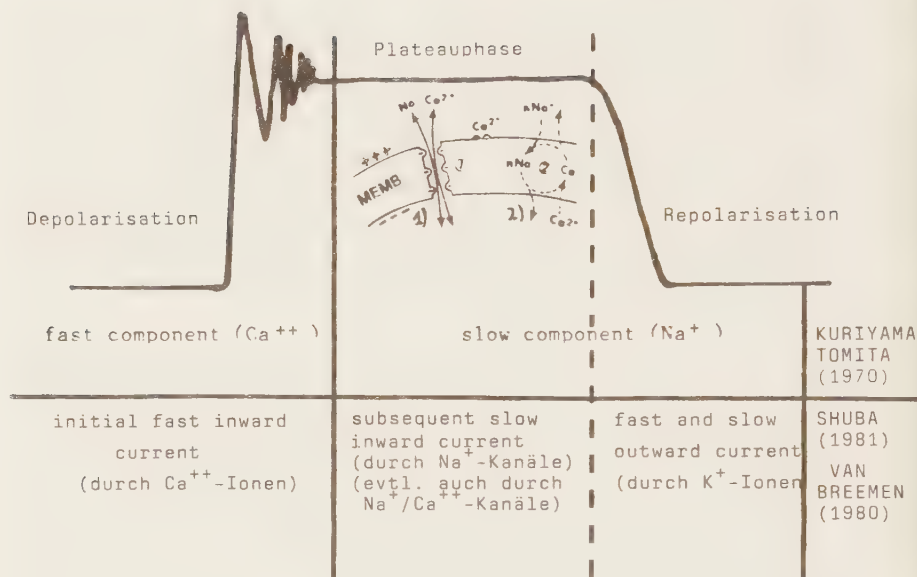


Abb. 43: Ionenströme während eines Aktionspotentials der glatten Muskulatur des Ureters.

Eine Reduzierung der extrazellulären K^+ -Konzentration führt nämlich zu einer Umwandlung von Bursts in Spikes. Spikes bleiben unbeeinflusst (Abb. 19A). Dabei ist auch eine Membranhyperpolarisierung zu beobachten. Eine Erhöhung des K^+ -Gehaltes der Inkubationslösung wandelt eine Spike- in eine Burstaktivität um und depolarisiert die Zellmembran (Abb. 20A). TEA, das den K^+ -Ausstrom aus der Zelle hemmt, und Procain verlängern die Repolarisationsphase (Abb. 31C; Abb. 35A,B). Der Aufstrich erscheint jedoch verstärkt (Abb. 31A-C). Wie eine erhöhte K^+ -Konzentration führt auch TEA zu einer Membrandepolarisation und zu einem Frequenzanstieg, was mit den Angaben von KURIYAMA (92), CASTEELS (36) und REIMNITZ (116) übereinstimmt. Diese Versuche machen somit deutlich, daß Kalium vor allem für die Repolarisationsphase des Aktionspotentials verantwortlich ist. Die Frage, warum TEA die Plateauphase nicht so sehr verlängert wie Kalium, wird damit jedoch nicht beantwortet. Vermutlich beeinflussen die Kaliumionen die Na^+ -Ströme (20, 121, 127, 133), die wahrschein-

lich für die Dauer der Plateauphase verantwortlich sind. Um diese Abhängigkeit näher zu untersuchen, wurde die K^+ -Konzentration einer Inkubationslösung mit reduziertem Na^+ -Gehalt vervierfacht. Hier zeigte Kalium keinen Einfluß auf die Plateauphase. Es war jedoch das Ruhemembranpotential depolarisiert, was zu einem Frequenzanstieg führte (Abb. 28). Kalium scheint am Ureter, wie von RIEMER (121), BRECHT (20) und Sparks (133) schon bei anderen Organen vermuteten, über eine Beeinflussung der Membranpermeabilität von Natrium oder der Na^+/K^+ -Pumpe die Plateauphase zu verändern. SHUBA (127) wies eine Unterdrückung der Plateauphase nach, als er die Natrium/Kalium-ATPase durch eine Kalium-freie Lösung und Ouabain blockierte.

Mit dem Frequenzanstieg der elektrischen Aktivität steigt auch die Frequenz der mechanischen Aktivität. Bemerkenswert ist dabei, daß bei der Kaliumzugabe, also bei der Verlängerung der Plateauphase der elektrischen Aktivität, vermehrt verlängerte phasische bzw. tonische Aktivitäten zu beobachten sind (Abb. 12, b: 3x, 5x). Vermutlich beeinflußt die Plateauphase vor allem die Stärke und die Dauer der phasischen Kontraktion.

Eine Erniedrigung der Ca^{++} -Konzentration in der Inkubationslösung wandelt eine Spike- in eine Burstaktivität um, dämpft die superponierten Spikes und depolarisiert die Zellmembran (Abb. 22B,C). Dabei kann es auch vereinzelt zu einer Rhythmisierung der elektrischen Aktivität kommen (Abb. 22A). Eine Erhöhung des Ca^{++} -Gehaltes wandelt eine Burst- in eine Spikeaktivität um. Die Zellmembran wird hyperpolarisiert (Abb. 23 A,B). Die Anstiegsgeschwindigkeit steigt um die Hälfte an. Dies stimmt nicht mit den Beobachtungen von ERNST (52) an der V. portae überein, wo bei Ca^{++} -Zugabe eine Plateauverlängerung nachgewiesen wurde. Nach RIEMER (121) erhöht ein Anstieg der Ca^{++} -Ionen im EZR die Membranpermeabilität für K^+ -Ionen (kürzere Repolarisationsphase) und vermindert die Na^+ -Leitfähigkeit (Verlängerung der Plateauphase). Dies bestätigen die vorliegenden Ergebnisse.

Calcium scheint nach SHUBA (128) auch die Na^+ -Transportvorgänge in der Zellmembran zu beeinflussen. REUTER u. SEITZ (117) weisen ferner auf die Möglichkeit eines Na^+/Ca^{++} -Austausches hin. VAN BREEMEN (21) beschreibt zwei Transportmechanismen:

- 1) Eine Membranpore mit negativen Fixladungen, die sowohl für Natrium, als auch für Ca^{++} -Ionen eine Affinität zeigt.
- 2) Ein $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ "exchange carrier", der den Einstrom von n-Ionen Natrium mit dem Ausstrom von einem Ion Calcium koppelt.
(siehe Abb. 43 1 u. 2)

Eine hohe Ca^{++} -Konzentration könnte den Carrier blockieren und so den Na^+ -Einstrom reduzieren. Der Austauschmechanismus an der Membranpore bringt vermutlich durch eine hohe Ca^{++} -Konzentration einen verstärkten Ca^{++} -Einstrom und damit zugleich einen erhöhten Na^+ -Ausstrom mit sich.

Die Membranhyperpolarisation bei Ca^{++} -Zugabe ist wahrscheinlich die Ursache für das Auftreten von abortiven, unterdrückten Aktionspotentialen. Die Hemmung der Spontankonzentration bei Ca^{++} -Entzug dürfte auf eine andere Ursache zurückzuführen sein. Wie schon im Kapitel "Zur ionalen Basis der Aktionspotentiale" (siehe S. 10) beschrieben, wird heute an der glatten Muskulatur von einem Ca^{++} -abhängigen Aktivierungsprozeß ausgegangen. Dies macht die völlige Hemmung der Aktionspotentiale in Calcium-freien Lösungen verständlich. Auch RIEMER (121) zog diese Möglichkeit an der *T. coli* in Erwägung. Er kam ferner zu dem Schluß, daß der Calcium-Aktivierungsmechanismus schon bei einer normalen Ca^{++} -Konzentration völlig gesättigt ist. Damit kann Calcium in hohen Konzentrationen nur indirekt auf Grund von Membraneffekten die Spontanaktivität beeinflussen.

Die Hypothese eines Calcium-Aktivierungsmechanismus stützen auch die Ergebnisse über die Wirkung spezifischer Ca^{++} -Antagonisten. Diese konkurrieren mit den Ca^{++} -Ionen an den potentialsensitiven Kanälen, die für die anfängliche Spikekomponente verantwortlich sind (BOLTON, 16). Verapamil hemmt ab einer Konzentration von 10^{-7} mol/l, Nifedipin ab $7 \cdot 10^{-9}$ mol/l die elektrische Spontanaktivität des Ureters völlig. Dabei scheint Nifedipin stärker als Verapamil zu wirken. Auch Mangan, das den schnellen Ca^{++} -Einstrom hemmt, vermindert die Membranerregbarkeit und verlängert die Plateauphase. Nach SHUBA (128) blockiert Mangan vor der Hemmung des Ca^{++} -Einstroms auch den von K^+ -Ionen getragenen "outward current". Dies erklärt die Verlängerung der Plateauphase, kurz bevor die elektrische Aktivität völlig unterdrückt wird. Mangan kann jedoch den Ca^{++} -Einstrom nicht völlig unterbinden, da die Ca^{++} -Ionen vermutlich auch durch die langsamen

Na^+ -Kanäle in die glatte Muskelzelle eindringen können, wie es am Herzen der Fall ist. Dies könnte auch erklären, warum Kalium selbst in Lösungen mit Mangan noch einen positiven Einfluß auf die elektrische Aktivität ausübt (Abb. 32).

Bei einer Zugabe von Nifedipin können noch weitere Effekte beobachtet werden. Wie schon von KÖLLING (89) und ERNST (52) an der V. portae beschrieben, kommt es auch am Ureter durch die Zugabe von Nifedipin in hohen Dosen zu einer Rhythmisierung der elektrischen Aktivität, wie sie teilweise auch bei der Absenkung der Ca^{++} -Konzentration beobachtet wird (Abb. 34C; 22A).

Nach der Hemmung der Aktionspotentiale durch Nifedipin tritt eine wellenförmige Depolarisation des Membranpotentials auf (Abb. 34A,B). Vermutlich kommt hier die "basale organeigene Rhythmik" (BOR) zum Vorschein, wie sie GOLENHOFEN (66) beschreibt. Dabei zeigt sich, daß die BOR unabhängig von Ca^{++} -Ionen ist und wahrscheinlich auf einem langsamen Natriumeinstrom beruht.

Barium kann nach UVELIUS (141) und BÜLBRING (27) Calcium teilweise ersetzen. Wie auch KURIYAMA (93) mit der Saccharose-Trennwand-Technik beobachtete, verlängert eine Bariumzugabe die Dauer eines Aktionspotentials erheblich (Abb. 25A,B). Dabei steigt die Frequenz stark an. Barium scheint Calcium bei der Auslösung der anfänglichen Spikekomponente ersetzen zu können, aber nicht wie Calcium die Plateauphase zu hemmen. Vermutlich blockiert Barium sogar den $\text{Ca}^{++}/\text{Na}^+$ -Austausch, unterbindet damit einen Teil des Natriumausstroms aus der Zelle und erhöht somit indirekt die Na^+ -Konzentration im Zellinneren. Dies führt zu einer Verlängerung der Plateauphase.

KUWAHARA (96) beschrieb als einziger Autor den Einfluß von Magnesium auf die Spontanaktivität des Ureters. Er konnte jedoch nicht wie bei den vorliegenden Untersuchungen eine eindeutige Wirkung von Magnesium nachweisen. Magnesium hemmt die Aktionspotentialfrequenz und unterdrückt in hohen Dosierungen die elektrische Spontanaktivität völlig (Abb. 26A,B). Dies spricht für eine membranstabilisierende Wirkung von Magnesium (SMITH et al., 131). SIGURDSSON (130) konnte den hemmenden Einfluß von Magnesium durch die Zugabe von Calcium aufheben. Er vermutete deshalb, wie auch SOMERS (132) und VIVEROS (142), einen antagonistischen Effekt zwischen Calcium und Magnesium.

Dies konnte jedoch in den vorliegenden Untersuchungen nicht bestätigt werden, da weder die Anstiegsgeschwindigkeit noch die Form des Aktionspotentials in eindeutiger Weise verändert wird, wie es nach einer kompetitiven Hemmung von Calcium der Fall sein mußte.

Die Erhöhung und die Verminderung der Calciumkonzentration übt einen negativen Einfluß auf die mechanische Spontanaktivität des Ureters aus (Abb. 24). Dafür scheinen aber zwei verschiedene Mechanismen von Bedeutung zu sein. Die Reduzierung der Calciumkonzentration führt, wie schon von SHUBA (128) beschrieben, durch eine Hemmung der anfänglichen Spikekomponente zu einer völligen Unterdrückung der phasischen Kontraktionen des Präparates. Vergleicht man diesen Frequenzabfall mit dem bei Ca^{++} -Erhöhung, so zeigt sich, daß dort die Amplitude nicht wie bei der Reduzierung der Ca^{++} -Konzentration absinkt, sondern anfänglich sogar zunimmt. Dies weist darauf hin, daß hier Calcium positiv auf die phasische Kontraktion wirkt, während die Frequenz durch die Membranhyperpolarisation abnimmt.

Nachdem die Bedeutung von Kalium und Calcium in Abhängigkeit von ihren absoluten Konzentrationen besprochen wurde, wird nun die Beziehung der beiden Ionen zueinander in Abhängigkeit von ihren relativen Konzentrationen betrachtet. Ähnliche Studien wurden nur von RIEMER et al. (121) an der *T. coli* des Meerschweinchens durchgeführt, weshalb auch keine Vergleichsdaten vorhanden sind. Wie die Abbildungen 27A-C zeigen, wurde das Verhältnis von $5,6 \cdot 10^{-3}$ mol/l KCl zu $2,16 \cdot 10^{-3}$ mol/l CaCl_2 als relatives Verhältnis 1:1 festgelegt, das dann schrittweise verändert wurde. Ein Überwiegen der Kaliumionen ($\text{K}^+ > 2:1$) löst eine burstartige, ein Überwiegen der Calciumionen ($1:\text{Ca}^{++} > 2$) eine spikeartige Aktivität aus. Dabei ist das relative $\text{K}^+/\text{Ca}^{++}$ -Verhältnis von 2:1 optimal für die Umwandlung von Spikes in Bursts und umgekehrt. Wird dieses Verhältnis unterschritten (1,5:1), so kommt es zB. bei der Umwandlung von Bursts in Spikes nur zu einer starken Reduzierung der Burstdauer oder zu einer Doppelspikeaktivität (Abb. 27C). Aus den vorliegenden Untersuchungen kann geschlossen werden, daß vermutlich nicht nur die absolute Konzentration der einzelnen Ionen, sondern vielmehr

auch ihr relatives Verhältnis zueinander von großer Bedeutung ist. Damit ist aber noch nicht die Frage geklärt, ob sich diese beiden Ionen direkt oder nur indirekt gegenseitig beeinflussen. Wie oben bereits besprochen, sinkt bei einer normalen Kaliumkonzentration sowohl bei Ca^{++} -Zugabe als auch bei Ca^{++} -Entzug die Aktionspotentialfrequenz ab. Da Calcium für die Auslösung eines Aktionspotentials essentiell zu sein scheint, ist der rasche Frequenzabfall bei Ca^{++} -Entzug verständlich (Abb. 27A). Betrachtet man nun die Abbildung 27B, so fällt auf, daß trotz der hohen Calciumzugabe von $8,64 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ die elektrische Spontanaktivität, wenn auch mit leicht verminderter Frequenz, erhalten bleibt. Dies steht im Widerspruch zu den Versuchen, bei denen nur Calcium zugegeben wurde. Dort war die Aktivität schon bei einer Konzentration von $4,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/l}$ völlig gehemmt. Vermutlich spielt hier der erhöhte Kaliumspiegel eine wichtige Rolle. RIEMER (121) sprach von einem "inhibating effect of excess calcium", bedingt durch eine Membranhypolarisation, die er aber durch Kalium ausgleichen konnte. Die Kaliumzugabe entsprach relativ der Calciumzugabe. Sie kompensiert den hemmenden Effekt von Calcium, so daß der "promoting effect" von Calcium, der die Auslösung der Aktionspotentiale beschleunigt und die Kraft der Kontraktion fördert, voll zum Tragen kommen kann. Vermutlich handelt es sich um einen Gleichgewichtszustand zwischen diesen beiden Ionen an der Zellmembran, für den die absolute und auch die relative Konzentration von Bedeutung ist.

Nach RIEMER (121) erhöht Calcium an der *T. coli* die Membranpermeabilität von Kalium. Dies trifft anscheinend auch auf die Verhältnisse am Ureter zu. So zeigt Abbildung 27B eine deutliche Verkürzung der Repolarisationsphase nach der Zugabe von Calcium, was aber die starken Veränderungen der Plateauphase nur zum Teil erklärt.

Vermutlich spielen neben diesen direkten Beziehungen zwischen Kalium und Calcium auch indirekte Beziehungen eine Rolle. Beide Ionen scheinen einen Einfluß auf die Natriumströme auszuüben, die die Ausbildung der Plateauphase bestimmen. Die Abhängigkeit des Natriumflusses von Kalium und Calcium wurde zwar schon oben beschrieben, sie soll jedoch hier noch einmal zusammengefaßt werden:

- 1) KALIUM : - beeinflusst den Na^+ -Fluß über die Na^+/K^+ -Pumpe.
- 2) CALCIUM: - reduziert die Membranpermeabilität von Natrium.
 - blockiert negative Festladungen der Membranporen,
 - erhöht den Na^+ -Ausstrom aus der Zelle durch eine starke Aktivierung des " $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ exchange carrier" Systems.

Natrium scheint zwar eine tragende Rolle zuzukommen, es bedarf jedoch noch weiterer Untersuchungen, um die Abhängigkeiten der Ionen voneinander besser zu verstehen. Bemerkenswert ist dabei jedoch, daß Kalium und Calcium, was die Aktivierung der Plateauphase betrifft, in einem Konkurrenzverhältnis stehen. Welcher Faktor nun aber die Plateauphase völlig unterdrückt (Spikes) bzw. wieder entwickelt (Bursts), muß noch näher untersucht werden. Dabei kann eine Verkürzung der Plateauphase nicht zwangsläufig mit dem Entstehen eines Spikes gleichgesetzt werden.

Hier stellt sich nun die Frage, welche Bedeutung diese Modulation der elektrischen Aktivität für die Mechanik hat. Eine steigende $\text{K}^+/\text{Ca}^{++}$ - "Treppe" zeigt bei einer Ca^{++} -Zugabe zunächst nur einen geringen (2:2), dann einen etwas stärkeren Frequenzabfall (Abb. 27D). Bei einer hohen Ca^{++} -Konzentration (4:4) ist auch die Amplitude erhöht. Die Frequenzschwankung ist vermutlich auf die wechselnde Hyper- und Depolarisation des Membranpotentials zurückzuführen. Die Erhöhung der Amplitude läßt sich wahrscheinlich auf den "promoting effect" von Calcium zurückführen. Dies zeigt auch die fallende $\text{K}^+/\text{Ca}^{++}$ - "Treppe" (Abb. 27D). Wird Calcium aus der Lösung entfernt, so sinkt die Amplitude sofort ab (1:0,5). In einem gewissen Bereich kann Kalium den inhibierenden Einfluß der Ca^{++} -Verminderung ausgleichen. Wird jedoch auch Kalium aus der Lösung entfernt (0,5:0,5), so sinkt die Aktivität sehr schnell ab. SHUBA (128) macht Calcium für die Auslösung und die Stärke der Kontraktionen, Kalium für den Frequenzanstieg und die Dauer der Kontraktion verantwortlich. Bei einer Verminderung der Na^+ -Konzentration ist zunächst eine starke Verlängerung der Plateauphase zu beobachten, die dann aber bei einer weiteren Reduzierung des Na^+ -Gehaltes in eine Spike- bzw. Doppelspikeaktivität übergeht (Abb. 28B-D). Dabei

steigt die Frequenz stark an. Eine Spikeaktivität wird in ihrer Form nur unwesentlich verändert (Abb. 28A). Ferner üben die Substanzen, die Natrium isoosmotisch ersetzen, einen deutlichen Einfluß auf die elektrische Aktivität aus. Wird Natrium durch Lithium anstatt durch Saccharose ersetzt, so sind die Na^+ -Effekte viel undeutlicher ausgeprägt (Abb. 29A). Wie schon von BRADING (19) beschrieben, wird das Membranpotential durch den Na^+ -Entzug stark hyperpolarisiert. Über den Einfluß von Natrium gibt es sehr widersprüchliche Angaben. So wiesen HOLMAN (75) und KOBAYASHI (84, 85) bei Natriumentzug eine Plateauverlängerung nach, während KURIYAMA (94) und SHUBA (128) eine Plateauverkürzung beobachteten. Bei den vorliegenden Versuchsreihen wurden beide Effekte beobachtet. Eine Halbierung der Na^+ -Konzentration führt zu einer Plateauverlängerung, eine weitere Reduzierung der Na^+ -Konzentration zur Spike- bzw. Doppelspikebildung. Diese Beobachtungen untermauern die Hypothese von SHUBA (128), daß Natrium für die Bildung der Plateauphase verantwortlich ist ("slow inward current of sodium"). Die genauen Mechanismen sind jedoch nicht bekannt.

Selbst bei einer hohen Acetylcholinosis von 10^{-5} mol/l kann kein eindeutiger Acetylcholineffekt nachgewiesen werden. Auch die Zugabe von Atropin zeigte keine Wirkung (Abb. 36A). Dies stimmt mit den Angaben von ANCILL (4) überein, der ebenfalls keine Acetylcholineinflüsse nachweisen konnte. Nach DEL TACCA (46) kommt den cholinergen Nerven im Nierenbeckenbereich keine funktionelle Bedeutung zu.

Auch die Zugabe von Adrenalin in einer Dosierung von 10^{-6} mol/l zeigte keine sichtbaren Effekte (Abb. 37 A,B). Aus diesem Grund wurden spezifischere α - und β -Mimetika eingesetzt. Das α -Mimetikum Phenylephrin steigert ab einer Konzentration von 10^{-7} mol/l die Aktionspotentialfrequenz und wandelt eine Burst- in eine Spikeaktivität um (Abb. 38). Das β -Mimetikum Fenoterol steigert bis hin zu einer sehr hohen Konzentration von 10^{-3} mol/l die Frequenz, wandelt jedoch eine spikeartige in eine burstartige um bzw. verlängert die Plateaudauer. Dabei ähnelt die verzögerte Repolarisationsphase den Verhältnissen bei einer Zugabe von Tetraäthylammoniumchlorid. Die β -Mimetika

scheinen den "fast and slow outward current" während eines Aktionspotentials zu hemmen. Beide Sympathomimetika depolarisieren die Zellmembran vermutlich über eine Inaktivierung der " K^+ -channels" (SHUBA, 128). Dies könnte auch die Frequenzzunahme erklären, die PHILIPP (114), LONGRIGG (98) und DEL TACCA (46) beobachteten. Die α - und β -Mimetika scheinen also nur die Form der elektrischen Aktivität gegensätzlich zu beeinflussen. Die β -Mimetika verursachen eine Plateauverlängerung, die möglicherweise durch eine Hemmung des K^+ -Ausstroms und eine Aktivierung des langsamen Na^+ -Einstroms ausgelöst wird (SHUBA, 128). Die Wirkung der α -Mimetika (Verkürzung der Plateaudauer) beruht vermutlich auf genau den gegenteiligen Effekten. Alle Sympathomimetika scheinen die Frequenz der Harnleiterperistaltik zu steigern, während die α - und β -Rezeptoren vermutlich nur den Ablauf einer peristaltischen Welle beeinflussen. So könnten die β -Mimetika über die Verlängerung der Plateauphase die Stärke und die Dauer der Kontraktionen steigern. Die α -Mimetika können vermutlich diese Wirkung aufheben. PHILIPP (114) wies nach, daß Dyskinesien des Ureters durch die Gabe von β -Mimetika verbessert werden, während α -Mimetika keine Wirkung zeigen.

Die vorliegenden Versuchsreihen belegen somit, wie das Zusammenspiel von Kalium, Calcium und Natrium die elektrische und damit auch die mechanische Aktivität des Pyeloureters beeinflusst. Ein großer Teil der pathophysiologischen Vorgänge am Ureter kann wahrscheinlich auch auf eine Störung dieser ionalen Steuerung der glatten Muskulatur zurückgeführt werden. Eine causale Beschreibung pathophysiologischer Prozesse setzt eine genaue Kenntnis der physiologischen ionalen Regelmechanismen der glatten Muskelzelle des Ureters voraus. Dies könnte dann zu effektiveren Therapien bei Erkrankungen der oberen Harnwege (PHILIPP, 114) und zu geeigneteren präventiven Maßnahmen vor einer Strahlentherapie (MICHAILOV, 102) führen.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, möglichst viele Humanpräparate in die Untersuchungen mit einzubeziehen. Dies sollte eine bessere Aussage über die Relevanz der beobachteten Effekte für den Menschen ermöglichen. Die Verwendung von Humanpräparaten bei mechanischen Versuchen ist heute schon nahezu

problemlos, während intrazelluläre elektrophysiologische Untersuchungen noch nicht möglich sind. Nur KUWAHARA (96) gelang es, allerdings mit der extrazellulären Saccharose-Trennwand Technik, einige elektrische Aktionspotentiale aus Humanpräparaten abzuleiten. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit versucht, durch eine Verfeinerung der Präparationstechnik und durch eine Weiterentwicklung der Methode Ansätze für eine intrazelluläre Ableitung aus Humanpräparaten des oberen Harntraktes zu entwickeln. Wie Abbildung 40 zeigt, konnten auch Membran- und Aktionspotentiale des menschlichen Ureters und Pyelons intrazellulär abgeleitet werden. Erste erfolgreiche Ableitungen wurden bereits 1981 gemacht (unveröffentlichte Ergebnisse) und von MICHAILOV et al. (104) 1984 vorgetragen. Es sind jedoch noch weitere Untersuchungen nötig, um die Methode zu optimieren. Dabei werden vor allem die Präparationstechnik und die Dimensionierung der Mikroelektroden von großer Bedeutung sein.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

An isolierten Pyeloureterpräparaten von Meerschweinchen wurden systematisch die elektrische (intrazelluläre) und die mechanische Aktivität erfaßt, sowie Einflüsse von Ionen (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Ba^{++} , Mn^{++}) und Pharmaka (Calciumantagonisten, TEA, Procain, Ach, Sympathomimetika) auf die Aktivitätsmuster untersucht. Dabei wurden verbesserte Methoden angewandt. Einige Phänomene konnten auch an menschlichen Präparaten (Operationsmaterial) nachgeprüft werden.

Zur Ableitung der elektrischen Spontanaktivität des isolierten proximalen Ureters wurde die diffizile intrazelluläre Mikroelektroden Technik gewählt. Eine neue Präparationstechnik erlaubte es erstmals, über längere Zeit Aktionspotentiale aus dem Ureter abzuleiten. Um die starke mechanische Aktivität der Präparate zu hemmen, wurde der als Inkubationslösung dienenden McEwen-Lösung 15% Saccharose zugesetzt; dies hatte keinen Einfluß auf den Muskeltonus.

Die mechanische Aktivität der Präparate wurde isotonisch gemessen. Pyelonpräparate und Ureterpräparate von Meerschweinchen und Mensch zeigten, unabhängig vom Ort ihrer Ableitung, unterschiedliche spike- und burstartige mechanische Aktivitätsmuster.

Am proximalen Ureter des Meerschweinchens konnten, ebenfalls unabhängig vom Ort der Ableitung, in einzelnen Muskelzellen verschiedenartige elektrische Spike- und Burstaktivitäten beobachtet werden. Das Ruhemembranpotential der Zellen betrug im Mittel $-46,3 \pm 4,96$ mV, die Amplitude $44,2 \pm 7,12$ mV und die Anstiegsgeschwindigkeit $0,9$ V/sec. Spikeartige Aktivitäten konnten keine Kontraktionen auslösen.

Durch eine selektive Veränderung der Konzentrationen einzelner Ionen der Inkubationslösung konnten die elektrischen Aktivitätsmuster (Bursts und Spikes) gezielt verändert und ineinander umgewandelt werden. Teilweise traf dies auch auf die mechanische Aktivität zu. Eine Reduktion der K^+ -Konzentration führte zu einer Umwandlung von Bursts in Spikes; eine Erhöhung des K^+ -Gehaltes wandelte eine Spike- in eine Burstaktivität um. Die umgekehrten Verhältnisse wurden bei Calciumerhöhung bzw. Calciumreduktion beobachtet. Natrium ($< 50\%$) wandelte eine Burstaktivität in eine Spike- bzw. Doppelspikeaktivität um.

Durch die Veränderung der ionalen Konzentrationen, insbesondere des K^+ / Ca^{++} -Verhältnisses, konnte nicht nur die Burstdauer, sondern auch die Burstform selektiv verändert werden (zB. durch Kaliumzugabe und Calciumreduktion).

Auch die Frequenz wurde durch die Ionen beeinflusst. So erhöhte eine Kaliumzugabe und eine Natriumabnahme die Frequenz. Jede Änderung der normalen Calciumkonzentration, eine Zugabe von Magnesium und eine Kaliumreduktion verminderten die Frequenz.

Barium und Mangan verlängerten die Plateauphase sehr stark. Mangan hemmte die elektrische Aktivität, während Barium die Frequenz der Aktionspotentiale steigerte.

Einige ausgewählte Pharmaka (Calciumantagonisten, TEA, Procain) zeigten erwartungsgemäß ähnliche Einflüsse wie die Ionen.

Acetylcholin und Adrenalin zeigten keine Wirkung. In hohen Konzentrationen steigerten das α -Mimetikum Phenylephrin und das β -Mimetikum Fenoterol die Frequenz der Aktionspotentiale. Den Ablauf des Aktionspotentials beeinflussten sie unterschiedlich. So verkürzte Phenylephrin die Plateauphase; Fenoterol hingegen verlängerte sie.

Es konnten auch einige Membran- und Aktionspotentiale von Humanpräparaten intrazellulär abgeleitet werden.

Durch eine verbesserte Methode zur intrazellulären Ableitung der elektrischen Aktivität von einzelnen Zellen des Pyeloureters und zur Erfassung der mechanischen Aktivität gelang es, die ionale Basis der verschiedenartigen elektrischen und mechanischen Aktivitäten des Pyeloureters teilweise zu klären. Damit ist es möglich, Pyeloureterpräparate von Meerschweinchen auch als Modellpräparate zur Prüfung der Einflüsse von Umweltstoffen, von Strahlen und von relevanten Pharmaka einzusetzen.

The spontaneous electrical and mechanical activity of guinea-pig ureter: Influences of ions, drugs and incubation.

The electrical (intracellular) and mechanical activity of isolated pyeloureter preparations were systematically recorded. In addition, the effect of ions (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Ba^{++} , Mn^{++}) and drugs (Ca^{++} -antagonists, TEA, procaine, acetylcholine, sympathomimetic drugs) on the different forms of activity was investigated. Some phenomenes were also verified on human preparations (surgical material).

The intracellular microelectrode technique was chosen for recording the spontaneous electrical activity of the isolated proximal ureter. A new preparation technique allowed it for the first time to record the action potentials of the ureter for a longer time. The strong mechanical activity of the preparations was suppressed by adding 15% sucrose to the McEwen solution (rinsing solution); this did not influence the muscle tonus.

The mechanical activity of the preparations was recorded isototonically. Guinea-pig and human preparations of pyelon and ureter showed spike- and burst-like activities. These were found in the whole pyelon and ureter.

In single muscle cells of the proximal guinea-pig ureter different spike- and burst-like electrical patterns were observed. These activities were independent from the point of measurement. A mean membrane potential of $-46,3 \pm 4,96$ mV, an amplitude of $44,2 \pm 7,12$ mV and a rate of rise of 0,9 V/sec were recorded. Spike-like electrical activities did not lead to contractions.

By changing the ionic concentration of the McEwen solution selectively, it was possible to modify specifically the electrical patterns (spikes and bursts) and transform them, one into another. In part, this was relevant for the mechanical activity, too. A reduction of the potassium-concentration transformed bursts into spikes; an elevation of the potassium-concentration changed the spikes into bursts. A calcium-reduction or calcium-elevation had the reverse effect. Sodium (< 50%) changed a burst activity into a spike- or doublespike activity. By varying the ionic concentration, especially the $\text{K}^+/\text{Ca}^{++}$ -ratio, not only the ionic concentrations, but also the form of the bursts could be influenced selectively (for example by adding potassium and reducing calcium).

Furthermore, the frequency was influenced by ions. Administration of potassium and reduction of sodium raised the frequency. Any change of the normal calcium concentration, application of magnesium and reduction of potassium resulted in a decrease of the frequency.

Barium and manganese strongly prolonged the plateau phase. Manganese inhibited the electrical activity, whereas barium increased the frequency of the action potentials.

As expected, some selected drugs (Calcium antagonists, TEA, procaine) showed similar effects like the ions.

Acetylcholine and atropine had no visible effect on the spontaneous activity of the ureter. In high concentrations the α -mimetic drug phenylephrine and the β -mimetic drug fenoterol increased the frequency of action potentials. Phenylephrine shortened the plateau phase, whereas fenoterol lengthened it. Some membrane and action potentials of human preparations could be recorded intracellularly.

An improved method to record the electrical activity of single cells of the pyeloureter intracellularly and the mechanical activity isotonicly allowed it to study and clear to some extent the ionic basis of the various electrical and mechanical activities. Furthermore, it would be possible to use preparations of guinea-pig pyeloureter as a model-system for testing influences of environmental xenobiotics, radiation and relevant drugs.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. ABE, Y., T. TOMITA:
Cable properties of smooth muscle.
J. Physiol. (London) 196, 87-100 (1968)
2. ADAM, G.:
Biologische Membranen.
in: Physikalische Chemie und Biophysik,
Springer-Verlag, Berlin-NY, 172-315 (1977)
3. ALBRECHT, K.F.:
Ableitende Harnwege
Klinische Pathophysiologie von W. Siegenthaler,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1050-1054 (1982)
4. ANCILL, R.J., D.M. JACKSON, P.H. REDFERN:
The pharmacology of the rat ureter in vivo.
Br. J. Pharmac. 44, 628-633, (1972)
5. ANDERSSON, K.E.:
New trend in lower tract pharmacology.
TIPS, Vol 4, No 12, 521-523 (1984)
6. AXELSSON, J.:
Dissociation of electrical and mechanical activity in
smooth muscle.
J. Physiol. (London) 158, 381-398 (1961)
7. AXELSSON, J., B. WAHLSTRÖM, B. JOHANSSON, O. JONSSON:
Influence of the ionic environment on spontaneous electrical
and mechanical activity of the portal vein.
Cir. Res. 21, 609-618 (1967)
8. AXELSSON, J.:
Mechanical properties of smooth muscle, and the relationship
between mechanical and electrical activity.
in: Smooth Muscle, ed. by E. Bülbbring, A.F. Brading,
T. Tomita, Edward Arnold, London, 289-315 (1970)
9. BARTOFF, A.:
Recording of extracellular electrical activity.
in: Methods in Pharmacology, ed. by E. Daniel und M. Patron,
Plenum Press, NY-London, Vol. 3, 185-200 (1975)
10. BECKER, R.:
Theorie der Elektrizität.
B.G. Teuber-Verlag, Stuttgart (1970)
11. BENNETT, M.R., G. BURNSTOCK, M. HOLMAN, J.W. WALKER:
The effect of Ca^{++} on plateau type action potentials in
smooth muscle.
J. Physiol. (London) 161, 47P (1962)
12. BENNETT, M.R., G. BURNSTOCK:
Application of the sucrose-gap method to determine the ionic
basis of the membrane potential of smooth muscle.
J. Physiol. (London) 183, 637-648 (1966)

13. BERGER, G.:
Die Doppelsaccharosetrennwandtechnik.
Eine Methode zur Untersuchung des Membranpotentials und der
Membraneigenschaften glatter Muskelzellen.
Pflügers Arch. 277, 570-176 (1963)
14. BOEV, B., K. GOLENHOFEN:
Sucrose-gap technique with pressed-rubber membranes.
Pflügers Arch. 349, 277-283 (1974)
15. BOLTON, T.B.:
Effects of stimulating the acetylcholine receptor on the
current-voltage relationships of the smooth muscle membrane
studied by voltage clamp of potential recorded by micro-
electrodes.
J. Physiol. (London) 250, 175-202 (1975)
16. BOLTON, T.B.:
Mechanism of action of transmitters and other substances
on smooth muscle.
Physiol. Rev. 59, Nr. 3, 606-718 (1979)
17. BOLTON, T.B., T. TOMITA, G. VASSOT:
Voltage clamp and the measurement of ionic conductances
in smooth muscle.
in: Smooth Muscle, ed. by E. Bülbring, A.F. Brading,
A.W. Jones, T. Tomita, Edward Arnold, London, 377-384 (1981)
18. BOZLER, E., G. BURNSTOCK:
Structure of smooth muscle and its innervation.
in: Smooth muscle, ed. by E. Bülbring, A.F. Brading,
T. Tomita, Edward Arnold, London, 289-315 (1970).
19. BRADING, A.F., E. BÜLBRING, T. TOMITA:
The effect of sodium and calcium on the action potential
of the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli.
J. Physiol. (London) 200, 637-654 (1969)
20. BRECHT, K., P. ROLAND, G. GEBERT:
The effect of potassium, catecholamines and other vaso-
active agents on isolated arterial segments of the
muscular type.
Physiol. Bohemoslov. 18, 15-22 (1969)
21. VAN BREEMEN C., A. AARONSON, R. LOUTZENHISER:
Sodium-calcium interactions in smooth muscle.
Pharmacol. Rev. 30, 166-208 (1980)
22. BÜLBRING, E.:
Correlation between membrane potential, spike discharge
and tension in smooth muscle.
J. Physiol. (London) 128, 200-221 (1955)
23. BÜLBRING, E., T. TOMITA:
The effects of Ba^{++} and Mn^{++} on the smooth muscle of guinea-
pig taenia coli.
J. Physiol. (London) 196, 137-139 (1968)

24. BÜLBRING, E., T. TOMITA:
Calcium and the action potential in smooth muscle.
in: Calcium and Cellular Function, ed. by A.W. Cuthbert,
Macmillan, London, 249 (1970)
25. BÜLBRING, E., I.N. HOOTON:
Membrane potentials of smooth muscle fibres in the rabbits
sphincter pupillae.
J. Physiol. (London) 125, 292-301 (1954)
26. BÜLBRING, E., G. BURNSTOCK:
Membrane potential changes associated with tachyphylaxis
and potentiation of the response to stimulating drugs in
smooth muscle.
Br. J. Pharmacol. and Chemother. 15, 611-624 (1960)
27. BÜLBRING, E., H. KURIYAMA:
Effects of changes in the external sodium and calcium con-
centrations on spontaneous electrical activity in smooth
muscle of guinea-pig taenia coli.
J. Physiol. (London) 100, 29-58 (1963)
28. BÜLBRING, E., T. TOMITA:
The effect of catecholamines on the membrane resistance
and spike generation in the smooth muscle of guinea-pig
taenia coli.
J. Physiol. (London) 194, 74-76 (1968)
29. BURNSTOCK, G., R.W. STRAUB:
A method for studying the effects of ions and drugs on the
resting and action potentials in smooth muscle with
external electrodes.
J. Physiol. (London) 140, 156-167 (1958)
30. BURNSTOCK G., C.L. PROSSER:
Conduction in smooth muscles: comparative electrical
properties.
Am. J. Physiol. 199, 553-559 (1960)
31. BURSTOCK, G., M.E. HOLMAN, C.L. PROSSER:
Electrophysiology of smooth muscle.
Physiol. Rev. 43, 482-527 (1963)
32. BURNSTOCK, G., M.E. HOLMAN:
Effect of drugs on smooth muscle.
Ann. Rev. Pharmacol. 6, 129-156 (1966)
33. CASTEELS, R., G. DROOGMANS:
The relation between the membrane potential and the ion dis-
tribution in smooth muscle cells.
in: Smooth Muscle, ed. by Bülbring E., A.F. Brading,
A.F. Jones, T. Tomita, Edward Arnold, London, 70-99 (1970)
34. CASTEELS, R.:
Effect of catecholamines on the electrical and mechanical
activity of the guinea-pig ureter.
Br. J. Pharmacol. 43, 429P (1971)

35. CASTEELS, R., G. DROOGMANS, H. HENDRIX:
Electrogenic sodium pump in smooth muscle cells of the guinea-pig's taenia coli.
J. Physiol. (London) 217, 297-313 (1971)
36. CASTEELS, R., G. DROOGMANS, H. HENDRIX:
Membrane potential of smooth muscle cells in K-free solution.
J. Physiol. (London) 217, 281-295 (1971)
37. CASTEELS, R., K. KITAMURA, H. KURIYAMA, H. SUZUKI:
The membrane properties of the smooth muscle cells of the rabbit main pulmonary artery.
J. Physiol. (London) 271, 41-61 (1977)
38. CASTEELS, R., L. RAEYMAEKERS:
The action of acetylcholine and catecholamines on an intracellular calcium store in the smooth muscle cells of the guinea-pig ureter.
J. Physiol. (London) 294, 51-68 (1979)
39. CONSTANTINOU, C.E.:
Renal pelvic pacemaker control of ureteral peristaltic rate.
Am. J. Physiol. 226, 1413-1419 (1974)
40. CONSTANTINOU, C.E., I.L. NEUBARTH:
Frequency gradient in the autorhythmicity of the pyelo-ureteral pacemaker system.
Experientia 34/5, 614-615 (1977)
41. CONSTANTINOU, C.E.:
Multiple-coupled pacemaker system in renal pelvis of the unicalyceal kidney.
Am. J. Physiol. 241, R412-418 (1981)
42. CREED, K.E.:
Effects of ions and drugs on the smooth muscle cell membrane of the guinea-pig urinary bladder.
Pflügers Arch. 326, 127-141 (1971)
43. CUTHBERT, A.W.:
The relation between response and the interval between stimuli of the isolated guinea-pig ureter.
J. Physiol. (London) 180, 225-238 (1965)
44. DAEMERS-LAMBERT, C.:
Voltage-clamp studies on rat portal vein.
in: *Physiology of Smooth Muscle*, ed. by E. Bülbring, M.F. Shuba, Raven Press, NY, 83-90 (1976)
45. DIXON, J.S., J.A. GOSLING:
The musculature of the human renal calices, pelvis and upper ureter.
J. Anat. 135, 129-137 (1982)
46. DEL IACCA, M.:
Pharmacological studies of the rabbit and human renal pelvis.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 285, 209-222 (1974)

47. DEL TACCA, M.:
Acetylcholine content of and release from isolated pelvi-
ureteral tract.
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 302, 293-297 (1978)
48. DEL TACCA, M.:
The effects of drugs on pacemaker region of isolated
renal pelvis.
Eur. J. Physiol. 71, 43-51 (1981)
49. DUDEL, J.:
Elektrische Potentiale.
in: Biophysik von Länger und Stark,
Springerverlag, Berlin-Heidelberg-NY, 361-368 (1977)
50. EBASHI, S.:
Excitation-contraction coupling.
Ann. Rev. Physiol. 38, 293-313 (1976)
51. EIGLER, J.:
Harnwegsinfekte, Pyelonephritis, und primär abakterielle
chronisch-interstitielle Nephropathien.
in: Klinische Pathophysiologie von W. Siegenthaler,
Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1026-1029 (1982)
52. ERNST, M.:
Die intrazellulär gemessene, elektrische Spontanaktivität
der isolierten Vena portae des Meerschweinchens:
Effekte der Inkubationsbedingungen und einigen mit dem
Calcium-Ionen interferierenden Pharmaka.
Med. vet. Diss., München, 102-119 (1982)
53. FEINSTEIN, M., M. PAIMRE:
Pharmacological action of local anaesthetics on excitation-
contraction coupling in striated and smooth muscle.
Fed. Proc. 28, 1643-1648 (1969)
54. FLECKENSTEIN, A., H. TRITTHART, B. FLECKENSTEIN, et al.:
A new group of competitive Ca-antagonists (Iproveratril,
D600, Prenylamine) with highly potent inhibitory effects
on excitation-contraction coupling in mammalian myocardium.
Pflügers Arch. 307, R 25 (1969)
55. FLECKENSTEIN, A., G. GRÜN, H. TRITTHARD, Y.H. BYON:
Uterusrelaxation durch hochaktive Ca-antagonistische Hemm-
stoffe der elektromechanischen Kopplung wie Isoptin (Vera-
pamil, Iproveratril), Substanz D600 und Segontin (Prenylamin)
Versuche am isolierten Uterus virginaler Ratten.
Klin. Wochenschr. 49, 32-41 (1971)
56. FLECKENSTEIN, A.:
Specific pharmacology in myocardium, cardiac pacemakers and
vascular smooth muscle.
Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 17, 149-166 (1977)
57. FUCHS, F.:
Striated muscle.
Ann. Rev. Physiol. 36, 461-502 (1974)

58. GABRISCH, K., P. ZWART:
Krankheiten der Heimtiere.
Schlütersche Verlagsanstalt, Hannover, 27-43 (1984)
59. GILLESPIE, J.S.:
Spontaneous mechanical and electrical activity of intestinal smooth muscle cells and their response to stimulation of the extrinsic parasympathetic nerves.
J. Physiol. (London) 155, P 32-33 (1961)
60. GOLDMAN, D.E.:
Potential, impedance and rectification in membranes.
J. Gen. Physiol. 27, 37-60 (1943)
61. GOLENHOFEN, K., D. v. LOH:
Temperatureinflüsse auf die Spontanaktivität der isolierten Taenia coli vom Meerschweinchen.
Pflügers Arch. 318, 35-60 (1970)
62. GOLENHOFEN, K., D. v. LOH:
Intrazelluläre Potentialmessungen zur normalen Spontanaktivität der isolierten Potalvene des Meerschweinchens.
Pflügers Arch. 319, 82-100 (1970)
63. GOLENHOFEN, K., E. LAMMEL:
Selective suppression of some components of spontaneous activity in various types of smooth muscle by Iproveratril (Verapamil).
Pflügers Arch. 331, 233-243 (1972)
64. GOLENHOFEN, K., J. HANNAPPEL:
Normal spontaneous activity of the pyeloureteral system in the guinea-pig.
Pflügers Arch. 341, 257-270 (1973)
65. GOLENHOFEN, K.:
Electrical activity in different regions of the pyeloureteral system in the guinea-pig.
Experientia 30, Fasc. 1, 33 (1974)
66. GOLENHOFEN, K.:
Die myogene Basis der glattemuskulären Motorik.
Klin. Wochenschr. 56, 211-224 (1978)
67. GORMANN, R.:
Zum Mechanismus der kardiovaskulären Effekte der Lokalanästhetika: Die intrazellulär gemessene elektrische Aktivität der isolierten Vena portae des Meerschweinchens bei verschiedenen Inkubationsbedingungen unter Einwirkung der Lokalanästhetika.
Med. Diss., München, 129-153 (1983)
68. GOSLING, J.A., J.S. DIXON, Y.R. HAMPHERSON:
Functional anatomy of the urinary tract.
Gower Medical Publishing, London-NY, (1983)
69. HANNAPPEL, J., K. GOLENHOFEN:
Comparative studies on normal ureteral peristalsis in dogs, guinea-pigs, and rats.
Pflügers Arch. 348, 65-76 (1974)

70. HANNAPPEL, J., K. GOLENHOFEN:
The effect of catecholamines on ureteral peristalsis in different species (dog, guinea-pig, rat).
Pflügers Arch. 350, 55-68 (1974)
71. HANNAPPEL, J., K. GOLENHOFEN, D. v. LOH:
Elektrophysiologische Untersuchungen zur Spontanaktivität des isolierten Ureters vom Meerschweinchen.
Pflügers Arch. 319, R 115 (1970)
72. HANNAPPEL, J., K. GOLENHOFEN, J. HOHNSBEIN, W. LUTZEYER:
Pacemaker process of ureteral peristalsis in multicalyceal kidneys.
Urol. Int. 37, 240-246 (1982)
73. HODGKIN, A.L., A.F. HUXLEY:
Currents carried by sodium and potassium through the membrane of giant axon of loglio.
J. Physiol. (London) 116, 449 (1957)
74. HODGKIN, A.L., P. HOROWICZ:
The differential action of hypertonic solutions on the twitch and action potential of a muscle fibre.
J. Physiol. (London) 116, 323 (1957)
75. HOLMAN, M.E.,:
Membrane potentials recorded with high-resistance microelectrodes and the effects of changes in ionic environment on the electrical and mechanical activity of the smooth muscle of the taenia coli of guinea-pig.
J. Physiol. (London) 141, 464-488 (1958)
76. HRYNCZUK, J.R.:
Electrophysiology of the ureter; an experimental animal model.
Scand. J. Urol. Nephrol. 6: Suppl.15, 105-112 (1972)
77. INOMATA, H., KAO, C.Y.:
Ionic currents in the guinea-pig taenia coli.
J. Physiol. (London) 255, 347-378 (1976)
78. ITO Y., H KURIYAMA:
Membrane properties of the smooth muscle fibres of the guinea-pig portal vein.
J. physiol. (London) 214, 427-441 (1971)
79. JOHANSSON B., B. LJUNG:
Spread of excitation in the smooth muscle of the rat portal vein.
Acta physiol. scand. 70, 312-322 (1967)
80. JOHANSSON, B., A.P. SOMLYO:
Electrophysiology and excitation-contraction coupling.
in: American Handbook of Physiology, ed. by Am. Physiol. Soc. Washington D.C., 301-323 (1968)
81. JONSSON, O.:
Effects of variations in the extracellular osmolarity on the ionic permeability of vascular smooth muscle.
Acta Physiol. Scand. 81, 405-421 (1970)

82. KEATINGE, W.R.:
Ionic requirements for arterial action potential.
J. Physiol. (London) 144, 169-182 (1968)
83. KENCH, P.:
A morphometric study of the pelvi-ureteral junction and
review of the pathogenesis of upper ureteric obstruction.
Pathology 14, 309-312 (1982)
84. KOBAYASHI, M., H. IRISAWA:
Effect of sodium deficiency on the action potential of the
smooth muscle of ureter.
Am. J. Physiol. 206, 205-210 (1964)
85. KOBAYASHI, M.:
Effects of Na and Ca on the generation and conduction of
excitation in the ureter.
Am. J. Physiol. 208, 715-719 (1965)
86. KOBAYASHI, M.:
Effect of calcium on electrical activity in smooth muscle
cells of cat ureter.
Am. J. Physiol. 216, 1279-1285 (1969)
87. KÖLLING, K., J. RIEMER:
Studies on spontaneous activity of isolated taenia coli
in Na-free, Ca-rich solution.
Pflügers Arch. 373, R 51 (1978)
88. KÖLLING, K., K.H. ZINNOBLER, R. GORMANNS, H. SCHWARZ et al.
The effect of local anesthetics on the spontaneous mechanical
and electrical activity of the isolated portal vein of the
guinea-pig.
Pflügers Arch. 389, 58 (1981)
89. KÖLLING, K.:
Die Bedeutung von Natrium-Calcium Interaktionen für die
Spontanaktivität der isolierten Taenia coli des Meerschwein-
chens bei kritischer Betrachtung der extrazellulären und
intrazellulären Ableittechnik.
Med. vet. Habil. München, 88-105 (1984)
90. KURIHARA, S., T. SAKAI:
Inhibitory effects of procaine on the electrical and mecha-
nical activities of the smooth muscle cells of the guinea-
pig urinary bladder.
Jap. J. Physiol. 26, 503-516 (1976)
91. KURIHARA, S., T. SAKAI:
Relationship between effects of procaine and Ca on sponta-
neous electrical and mechanical activities of the smooth
muscle cells of the guinea-pig urinary bladder.
Jap. J. Physiol. 26, 487-501 (1976)
92. KURIYAMA, H.:
Membrane properties of the smooth muscle of guinea-pig ureter.
J. Physiol. (London) 191, 225-238 (1967)

93. KURIYAMA, H., T. TOMITA:
The action potential in the smooth muscle of the guinea-pig taenia coli and ureter studied by double sucrose gap technique.
J. Gen. Physiol. 55, 147 (1970)
94. KURIYAMA, H.:
Effect of ions and drugs on the electrical activity of smooth muscle.
in: Smooth Muscle, ed. by Bülbring E., A.F. Brading, A.W. Jones, T. Tomita, Edward Arnold, London, 366-394 (1970)
95. KURIYAMA, H., K. OSHIMA, Y. SAKAMOTO:
The membrane properties of the smooth muscle of the guinea-pig portal vein in isoosmotic and hypertonic solutions.
J. Physiol. (London) 217, 179-199 (1971)
96. KUWAHARA, M.:
Action potential of isolated human ureter recorded with sucrose gap technique.
J. Urol. 129, 430-432 (1983)
97. LAMMEL, E., GOLENHOFEN, K.:
Messungen der Ca-Aufnahme an intestinalen glatter Muskulatur zur Hypothese eines von Ca-Ionen getragenen Aktionsstroms.
Pflügers Arch. 329, 269-282 (1971)
98. LONGRIGG, N.:
In vitro studies on smooth muscle of the human renal pelvis.
Eur. J. Pharmacol. 34, 293-298 (1975)
99. LUTZEYER, W., J. HANNAPPEL:
Physiologie des Harnleiters.
in: Urologie in Klinik und Praxis von Hohenfelder, R., E.J. Zingg, Georg Thieme Verlag, Stuttgart-NY, 40-45 (1982)
100. LUTZEYER W., MELCHIOR H.:
Anatomie, Topographie, Physiologie u. Pathophysiologie der ableitenden Harnwege.
in: Gynäkologische Urologie und Nephrologie von Kremling H., W. Lutzeier und R. Heinz, Urban u. Schwarzenberg, Wien-Baltimore (1977)
101. MICHAÏLOV, M. CH., G. HOLBRUGGER:
Effects of Urol on isolated neuromuscular preparations of guinea-pig and rat urogenital tracts.
Urol. int. 36, 225-234 (1981)
102. MICHAÏLOV, M. CH., H. GRINDLER-GREIMEL, U. WELSCHER:
Zur Pharmakophysiologie isolierter neuro-glattnuskulärer Präparate aus Pyeloureter und Detrusor vesicae von Mensch und Meerschweinchen.
Beitr. Urol., vol. 3, 188-201 (1983)
103. MICHAÏLOV, M. CH., G. HOHLBRUGGER, E. ELSÄBER, M. BUCHGEHER:
Vergleichende pharmakologische Studien an isolierten Präparaten des menschlichen Ureters.
Fortschr. Urol. Nephrol. 22, 424-427 (1984)

104. MICHAÏLOV, M. CH., D. MARTIN, H. GRINDLER-GREIMEL, A. PETTER
B. RATTEL, CH. FALTERMAYER, E. ELSÄSSER:
On the ionic regulation of the electrical and mechanical
activities in human and guinea-pig ureter.
London, 8th International Biophysics Congress, 1984
105. MITOLO-CHIEPPA, D., F. CAGNAZZO:
Sympathetic mediation of induced and spontaneous activity
of the pelvis-ureter in vitro.
Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 55, /40 /45 (1979)
106. MORITA, T.:
Initiation and propagation of stimulus from the renal
pacemaker in pig kidney.
Invest. Urol. 19, 157-160 (1981)
107. MORITA, T.:
Roles of adrenergic drugs in the renal pelvic pacemaker
control of ureteral peristalsis.
Urol. int. 38, 285-292 (1983)
108. MORITA, T.:
In vivo recording of renal pelvis pacemaker potential.
Urol. Int. 39, 16-20 (1984)
109. NAYLER, W.G., Ph. PODE-WILSON:
Calcium antagonists: Definition and mode of action.
Basic Res. Cardiol. 76, 1-15 (1981)
110. NEU, E., D. MARTIN, A. PETTER, B. RATTEL, A.B. MURRAY,
M. CH. MICHAÏLOV:
The spontaneous mechanical and electrical activity of iso-
lated guinea-pig and human pyeloureter preparations.
Dortmund: 60. Tagung der Deutschen Physiologischen
Gesellschaft, 1984
111. NICKEL, R., A. SCHUMMER, E. SEIFERLE:
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.
Band II: Eingeweide
Verlag Paul Parey, 291 (1979)
112. NOMOMURA, Y., Y. HOTTA, H. OHASHI:
Tetrodotoxin and manganese ions: Effects on electrical
activity and tension in taenia coli of guinea-pig.
Science 152, 97-99 (1966)
113. OSHIMA, K.:
Effects of various osmotic solutions on membrane properties
of smooth muscle cells of the guinea-pig ureter.
Invest. Urol. 19, No. 2, 79-83 (1981)
114. PHILIPP, K.:
Die Erfassung und medikamentöse Beeinflussung der
Ureterenmotilität.
Fortsch. Med. 101, 1621-1625 (1983)
115. RATTEL, B., H. GRINDLER-GREIMEL, U. WELSCHER, D. HÜTING,
M. CH. MICHAÏLOV:
Pharmacological influences on the electrical and mecha-
nical of pyeloureter.
New Delhi, Asian Congress of Pharmacology, 1985

116. REIMNITZ, J.:
Total Na and K gradient in the pyeloureter.
Urol. int. 36, 235-244 (1981)
117. REUTER, H., W. SCHLIZ:
The dependence of calcium efflux from cardiac muscle on
temperature and external ion composition.
J. Physiol. (London) 195, 451-470 (1968)
118. RIEMER, J.:
Die Bedeutung der Calcium-Ionen für den Schrittmacher der
myogenen Spontanaktivität der Taenia coli vom Meerschweinchen.
Med. Habil., München (1974)
119. RIEMER, J., C.J. MAYER, G. ULBRECHT:
Determination of membrane potential in smooth muscle cells
using microelectrodes with reduced tip potential.
Pflügers Arch. 349, 267-275 (1974)
120. RIEMER, J., F. DÖRFLER, C.J. MAYER, G. ULBRECHT:
Calcium- antagonistic effects on the spontaneous activity
of guinea-pig taenia coli.
Pflügers Arch. 351, 241-258 (1974)
121. RIEMER, J., C.J. MAYER, G. ULBRECHT:
Dual effects of calcium ions on pacemaker activity in
guinea-pig taenia coli.
Pflügers Arch. 356, 19-31 (1975)
122. RIZZO, M.:
Ultrastructure of the urinary tract muscle coat in man.
Calices, renal pelvis, pelvi-ureteral junction, ureter.
Eur. Urol 7, 171-177 (1981)
123. SCHEID, C.R., T.W. HONEYMAN, F.S. FAY:
Mechanism of β -adrenergic relaxation of smooth muscle.
Nature 277, 32-36 (1979)
124. SCHWARZ-SØRENSEN, S., S. ELKJØER-HUSTED et al.:
Topographic variations in alpha-adrenergic and cholinergic
response in the pig renal pelvis.
Urol. int. 38, 271-174 (1983)
125. SHUBA, M.F.:
Mechanism of action of catecholamines and histamine on
smooth muscle cells of guinea-pig ureter.
J. Physiol. (London) 245, 88-89 (1975)
126. SHUBA, M.F.:
The mechanism of the excitatory action of the catecholamines
and histamine on the smooth muscle of guinea-pig ureter.
J. Physiol. 264, 853-864 (1977)
127. SHUBA, M.F.:
The effect of sodium free and potassium free solutions,
ionic current inhibitors and ouabain on electrophysiological
properties of the smooth muscle of guinea-pig ureter.
J. Physiol. 264, 837-851 (1977)

128. SHUBA, M.F.:
Smooth muscle of the ureter: the nature of excitation and the mechanisms of action of catecholamines and histamine.
in: Smooth Muscle, ed. by Bülbring E., A.F. Brading, A.W. Jones, T. Tomita, Edward Arnold, London, 377-384 (1981)
129. SHUGART-REIMNITZ, C.:
Gradient of total Ca^{++} in the renal pelvis.
Urol. int. 36, 256-264 (1981)
130. SIGURDSSON, S.B., B. UVELIUS:
The effects of variations in extracellular magnesium concentration on electrical and mechanical activity in rat portal vein.
Acta Physiol. Scand. 99, 368-376 (1977)
131. SMITH, T.C., T.M. MIKITTEN, C. LEVINSON:
The effect of multivalent cations on the membrane potential of the EHRLICH ascites tumor cells.
J. cell. comp. Physiol. 79, 117-126 (1972)
132. SOMERS, G., G. DEVIS, E. VAN OBBERGHEN, W.J. MALAISSE:
Calcium antagonists and islet function. Effect of barium.
Pflügers Arch. 365, 21-25 (1976)
133. SPARKS, H.V. jr.:
Effect of local metabolic factors on vascular smooth muscle.
Physiol. Soc., Washington D.C., 475-513 (1980)
134. STÖBER, U.:
Entwicklung von Pyonephrose und Urosepsis.
Urol. int. 38, 44-50 (1983)
135. SZRUSZEWSKI, J.H.:
A study of the canine gastric action potential in the presence of tetraaethylammonium chloride.
J. Physiol. (London) 277, 91-102 (1978)
136. TAYLOR, S.R., R. RÜDEL, J.R. BLINKS:
Calcium transients in amphibian muscle.
Fed. Proc. 34, 1379-1381 (1975)
137. TINDALL, A.R.:
Preliminary observations on the mechanical and electrical activity of the rat ureter.
J. Physiol. (London) 223, 633-647 (1972)
138. TONINI, M., S. LECCHINI:
Action of TTX on spontaneous electrical activity of some smooth muscle preparations.
Eur. J. Pharmacol. 29, 236-240 (1974)
139. TOMITA, T.:
Electrical properties of mammalian smooth muscle.
in: Smooth Muscle, ed. by Bülbring E., A.F. Brading, A.W. Jones, T. Tomita, Edward Arnold, London, 197-243 (1970)
140. TOWART, R., M. SCHRAMM:
Recent advances in the pharmacology of the calcium channel.
TIPS, Vol.4, No 3, (1984)

141. UVELIUS, B., B. SIGURDSSON, B. JOHANSSON:
Strontium and barium as substitutes for calcium on electrical and mechanical activity in rat portal vein.
Blood Vessels 11, 245-259 (1974)
142. VIVEROS, H., G. SOMJEN:
Magnesium-calcium antagonism in the contraction of arterioles.
Experientia 24, 457-459 (1968)
143. ZAWALINSKI V.C., C.E. CONSTANTINOU, G. BURNSTOCK:
Ureteral pacemaker potentials recorded with the sucrose gap technique.
Experientia 31: 931-932 (1975)
144. ZETTLER, F.:
Kalt gefüllte Mikroglaskapillaren und ihre elektro-physiologisch relevanten Eigenschaften.
Vergl. Physiol. 67, 423-435 (1970)
145. ZINNHOBLE, K.H.:
Der Einfluß der Lokalanästhetika und der extrazellulären Kalziumkonzentration auf die Kontraktilität der Vena portae.
Med. Diss., München (1981)

DANKSAGUNG

Herrn Dr. med. M. Ch. Michailov gilt mein besonderer Dank für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für die Betreuung und Einführung in die Methodik des wissenschaftlichen Arbeitens.

Herrn Prof. Dr. A. Petter danke ich für die Überlassung des Themas, für das große Interesse an der Arbeit und seine ständige Bereitschaft zu Diskussionen.

Herrn Prof. Dr. Dr. U. Hagen, Herrn Prof. Dr. H. Müller-Mohnssen und Prof. Dr. H. Tempel danke ich für ihr Interesse an der Arbeit und ihre Unterstützung.

Frau H. Grindler-Greimel und Frau I. Prechter, möchte ich für ihre Hilfe und die Einführung in die experimentellen Methoden danken.

Herrn Goddeng sei herzlich für die Hilfe beim Photographieren der Bilder gedankt.

LEBENS LAUF

Am 2. September 1958 wurde ich als erstes Kind des Staatsanwaltes Paul-Norbert Rattel und der Studienrätin Maja Rattel, geborene Freund, in München-Pasing geboren.

Im Herbst 1964 trat ich in die Volksschule I an der Senftenauer Straße ein und wechselte zum 3. Schuljahr in die Volksschule II an der Senftenauer Straße über.

Zur 5. Klasse trat ich ins Klenze-Gymnasium München ein und wechselte nach der 6. Klasse ins Dante-Gymnasium über, wo ich im Sommer 1977 das Zeugnis der Reife erwarb.

Nach Ableistung meines Wehrdienstes vom Juli 1977 bis zum September 1978 nahm ich im WS 1978/79 an der Ludwig-Maximilians Universität München das Studium der Tiermedizin auf, das ich am 14. Dezember 1983 mit dem Staatsexamen beendete.

Am 27. Januar 1984 wurde mir vom Bayrischen Staatsministerium des Inneren die Approbation erteilt.

Bis zum 1. November 1984 war ich als Doktorand in der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung tätig.

Seit 1. November 1984 arbeite ich am Institut für Pharmakologie und Toxikologie als wissenschaftliche Hilfskraft.

